

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

Studijní obor: farmacie

Vliv přísavku viskozifiantů na vlastnosti nanoemulzí

The effect of addition of thickening agents on nanoemulsion properties

Diplomová práce

Autor: Alžběta Dorota Kovaříková

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Pavel Berka

Hradec Králové

Květen 2010

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

.....

podpis diplomanta

Děkuji vedoucímu mé diplomové práce Mgr. Pavlu Berkovi za odborné vedení,
hodnotné rady a věnovaný čas během práce.

Děkuji svým nejbližším za podporu po celou dobu studia.

ABSTRAKT

Nanoemulze jsou emulze typu olej ve vodě s rozměry vnitřní diskontinuální fáze v hodnotách 1 – 500 nm. Nejedná se o mikroemulze, které jsou transparentní a termodynamicky stabilní. U nanoemulzí, ačkoliv jsou obvykle stabilnější než makroemulze, může docházet ke krémovatění emulze, k flokulaci nebo k Ostwaldovu zrání emulze. Jednou z možností, jak těmto destabilizačním procesům zabránit, je přidání viskozifiantu. Viskozifiant zvyšuje viskozitu vnější fáze a tím snižuje pohyb fáze vnitřní a stabilizuje tak celý systém.

V této práci byl hodnocen vliv přídavku viskozifiantu na nanoemulze. Jako viskozifianty byly použity deriváty celulózy. Konkrétně: hydroxypropylmethyl- (HPMC), hydroxyethyl- (HEC) a hydroxypropylcelulóza (HPC). Viskozifianty byly přidány k nanoemulzím v koncentracích 0,00; 0,15; 0,33; 1,33; 2,00 a 3,33 %. Makroskopicky se jako relativně stabilní jeví vzorky s koncentrací nižší než 1,33 %. Jako metoda zrychlených stabilitních testů byla zvolena centrifugace (3000 otáček za sekundu) po dobu deseti minut, která byla dostatečná k ustálení rovnováhy v systému. Velikost částic s nižší koncentrací (do 1,33 %) se pohybovala v rozmezí hodnot 200 ± 50 nm. U vyšších koncentrací docházelo k destabilizaci systému již v průběhu měření, proto se velikost částic pohybuje od 100 nm až po 1880 nm. Homogenizace vzorků s nižší koncentrací viskozifiantu ovlivnila velikost částic jen minimálně (± 20 nm). U vzorků s koncentrací vyšší jsou opět hodnoty velmi rozdílné.

Jako nejstabilnější vzorky se z makroskopického pohledu i z pohledu hodnocení změn velikosti částic jeví vzorky emulze číslo 25 s HEC jako viskozifiantem.

Klíčová slova: nanoemulze, viskozifiant, DLS, centrifugace, homogenizace.

ABSTRACT

Nanoemulsions are o/w emulsions with the particle size of discontinuous phase in the range of 1 – 500 nm. They are not transparent and thermodynamically stable as microemulsions. Although nanoemulsions are usually more stable than macroemulsions, creaming, flocculation or Ostwald ripening may occur. One of possibilities to avoid such destabilizing processes is the addition of a thickening agent. The thickening agent increases the viscosity of the external phase, thus reducing the movement of the internal phase and stabilizing the entire system.

The aim of this work was to evaluate the effect of an addition of the thickening agents to nanoemulsions. Cellulose derivatives (specifically: hydroxypropylmethyl- (HPMC), hydroxyethyl- (HEC) and hydroxypropylcellulose (HPC)) were used as the thickening agents. They were added at concentrations of 0.00, 0.15, 0.33, 1.33, 2.00 and 3.33 ‰. The samples with thickening agent concentration lower than 1.33 ‰ seemed relatively stable from macroscopic point of view. Centrifugation was chosen as a method for accelerated stability testing. It was performed with 3000 revolutions per second for 10 minutes, which was sufficient to establish the balance in the system. Samples with lower concentrations of the thickening agent (up to 1.33 ‰) had particle size in the range of 200 ± 50 nm. At higher concentrations of the thickening agent, the system was destabilized already during the measurements, resulting in measured particle size ranges from 100 nm to 1880 nm. The influence of the homogenization of the samples with lower concentrations of thickeners on their particle size was minimal (± 20 nm), the influence on the samples with higher concentrations was very variable.

The samples of the nanoemulsion No. 25 with HEC seemed like the most stable ones, both from macroscopic and from particle size results' point of view.

Keywords: nanoemulsion, thickening agents, DLS, centrifugation, homogenization.

OBSAH

1 ÚVOD	8
2 CÍL PRÁCE	9
3 TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1 Disperzní systémy	10
3.2 Emulze	10
3.2.1 Příprava emulzí.....	11
3.2.2 Složení farmaceutických emulzí	11
3.2.2.1 <i>Hydrofobní složka emulze</i>	11
3.2.2.2 <i>Hydrofilní složka emulze</i>	12
3.2.2.3 <i>Emulgátory</i>	12
3.2.2.4 <i>Viskozifikanty</i>	13
3.2.2.5 <i>Další složky emulzí</i>	13
3.2.3 Metody přípravy emulzí.....	14
3.2.4 Vlastnosti emulzí.....	14
3.2.5 Stabilita emulzních systémů.....	15
3.2.6 Stabilizace emulzí.....	16
3.3 Nanoemulze	16
3.3.1 Příprava nanoemulzí	17
3.3.2 Stabilita nanoemulzí	17
3.4 Viskozifikanty	18
3.4.1 Polymerní viskozifikanty	18
3.5 Analýza velikosti částic laserovou difrakcí (DLS)	20
3.5.1 Princip.....	21
3.5.2 Přístrojové vybavení.....	23
3.5.3 Nové technologie	23
3.5.4 Variabilita místa měření	24
3.6 Centrifugace.....	25
3.7 Měření viskozity kapilárním viskozimetrem	25
3.8 Využití emulzí a nanoemulzí	26
3.8.1 Využití nanoemulzí ve farmacii.....	27

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1 Suroviny a materiál	29
4.1.1 Složení emulzí o/v	30
4.2 Přístroje a pomůcky	31
4.3 Složení a příprava emulzních vzorků	32
4.4 Měření velikosti částic	33
4.5 Centrifugace	34
4.6 Homogenizace	34
4.7 Stanovení viskozity	34
4.8 Výsledky měření	34
5 DOKUMENTACE	35
5.1 Centrifugace emulzí	35
5.2 Homogenizace emulzí	41
5.3 Měření velikosti částic emulzí	42
5.3.1 Protokoly	42
5.3.2 Velikost částic	45
5.4 Stanovení viskozity emulzí	48
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	49
6.1 Makroskopické hodnocení nanoemulzí	49
6.2 Velikost částic	50
6.3 Zrychlené stabilitní testy	57
6.4 Vliv homogenizace emulzí na velikost částic	64
7 ZÁVĚR	65
8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	66
9 POUŽITÁ LITERATURA	67

1 ÚVOD

V současné době se celosvětově zvyšuje počet nemocných a chronicky léčených pacientů. Nejrozšířenějším problémem je nákaza virem HIV a nádorové bujení, protože u těchto onemocnění dochází často při dlouhodobé léčbě k vývoji rezistence. Navíc léčba bývá pro organismus pacienta vysoce toxická a neobejde se bez nežádoucích účinků. Farmaceutické společnosti věnují pozornost nejen vývoji nových léčiv, ale i způsobům, jak tato léčiva distribuovat do cílové tkáně a tím omezit negativní působení na zbytek organismu. Za tímto účelem jsou mimo jiné studovány lékové mikro- a nanoformy, jako jsou lipozómy, mikroemulze a nanoemulze.

Pro nanoemulze je charakteristická velikostí kapiček vnitřní fáze do 500 nm. Na rozdíl od mikroemulze, která je transparentní a termodynamicky stabilní, je nanoemulze nestabilní a mléčně zbarvená. Dochází u ní ke stejným projevům nestability, jako u makroemulzí (krémovatění, Ostwaldovo zrání emulze, flokulace).

Jedním ze způsobů, jak zvýšit stabilitu nanoemulzí, je zvýšení viskozity kontinuální fáze, tedy přidání viskozifiantu. Nicméně, je třeba počítat i s dalším účinkem viskozifiantu na emulzní systém.

V této práci jsou hodnoceny vlastnosti a chování modelových nanoemulzí s přidáním polymerních viskozifiantů. Jako viskozifianty jsou použity deriváty celulózy.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo v první fázi zhodnotit vliv přídavku polymerních viskozifiantů na vlastnosti nanoemulzí pomocí centrifugace, makroskopického hodnocení a měření velikosti částic laserovou difrakcí.

Ve druhé fázi zhodnotit makroskopickým pozorováním a měřením velikosti částic laserovou difrakcí vliv homogenizace vzorků Ultra-turaxem.

Viskozifianty pro účely této práce byly zvoleny tři ethery celulózy: hydroxypropylmethyl-, hydroxyethyl- a hydroxypropylcelulóza.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Disperzní systémy

Disperzní systém je soustava nejméně dvou a více látek, přičemž první látka je rozptýlena v látce druhé ve formě větších či menších částic. Pro rozptýlenou látku se používá pojem disperzní podíl, disperzní fáze, nebo také vnitřní fáze. Spojitou fází, disperzním prostředím či vnější fází se nazývá látka druhá, která je spojitá v celém objemu soustavy.^{1, 2}

Existuje mnoho typů disperzních systémů, které jsou pro snazší orientaci klasifikovány podle různých hledisek. Podle skupenství spojitě fáze se disperzní systémy dělí na plynné, kapalně anebo tuhé.

Druhým klasifikačním kritériem je velikost dispergovaných částic. V analytické disperzi mají rozptýlené částice průměr přibližně do 1 nm anebo počet atomů do 10^3 . Dispergováním větších částic o průměru 1 až 500 nm (případně 1-1 000 nm) vznikají koloidní disperzní systémy a nad uvedenou hranicí velikosti částic hrubé disperze.

Podle počtu skupenství se disperzní systémy dělí na homogenní a heterogenní.³

3.2 Emulze

Podle IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) jsou emulze definovány jako systémy, ve kterých jsou tekuté kapky a/nebo tekuté krystaly rozptýleny v kapalině.⁴

Emulze jsou heterogenní dvoufázové disperzní systémy, složené ze dvou vzájemně nemísitelných nebo omezeně mísitelných kapalin. Jsou to nestabilní, hrubě disperzní systémy, které jsou obvykle do jisté míry stabilizovány přítomností emulgátorů a dalších pomocných látek.

Ve farmaceutických emulzích je obvykle jedna fáze vodná a druhá je olejová, takže se rozlišují emulze typu *olej ve vodě*, *o/v*, kde jsou kapky oleje rozptýleny ve vnější vodné fázi, a emulze typu *voda v oleji*, *v/o*, kde jsou v oleji rozptýleny kapky vodné fáze. Za vodnou fází se přitom rozumí voda, dále vodný roztok, ale i směs vody

s převahou jiné hydrofilní kapaliny, např. glycerolu. Olejovou fází se rozumí libovolná kapalná nebo polotuhá lipofilní látka, která je nemísitelná s vodou, jako např. parafínový olej, rostlinné oleje, živočišné tuky apod.

Kromě jednoduchých emulzí lze také připravit emulze složené, dvojité, v/o/v se zdvojenou vodnou fází nebo o/v/o se zdvojenou olejovou fází.

3.2.1 Příprava emulzí

Emulze se obvykle připravují vzájemnou dispergací dvou či více omezeně mísitelných kapalin za přítomnosti emulgátoru. Proces se nazývá emulzifikace nebo **emulgace**. Často se provádí dvoustupňově. Na primární emulgaci, při které se vytvoří hrubá emulze s relativně velkými částicemi dispergované fáze, navazuje sekundární emulgace, při které dochází k úpravě velikosti částic. Druhý krok, nebo úprava původní přirozené emulze, se označuje též jako **homogenizace**.

Při emulgaci dochází k několikanásobnému zvětšení kontaktní plochy obou fází. K tomu je nutné dodat mechanickou energii nejčastěji formou třepání, míchání, ultrazvukem apod. a snížit mezipovrchové napětí.⁵

Homogenizace je úprava emulze, při níž je mechanickým způsobem redukována polydisperzita systému – rozrušení aglomerátů – a zmenšována velikost částic systému. Touto úpravou se zvyšuje stabilita emulze.⁶

3.2.2 Složení farmaceutických emulzí

Jak již bylo zmíněno, hlavní složku emulze tvoří dvě vzájemně omezeně mísitelné kapaliny, hydrofobní a hydrofilní. Nedílnou součástí emulzí jsou ale i emulgátory, viskozifikanty, korigencia chutě a vůně, antimikrobiální a antioxidační přísady.

3.2.2.1 Hydrofobní složka emulze

Farmaceutický průmysl využívá lékopisně kodifikované triglyceridy olejovité konzistence nebo tekuté vosky, minerální oleje, případně terpeny.

Pro perorální aplikaci se nejčastěji používá tekutý parafin (biologicky nedegradovatelný), často také laxativně působící ricinový olej. Z dalších je to například rybí olej s obsahem vitaminů, olej sójový, lněný nebo olivový.

3.2.2.2 *Hydrofilní složka emulze*

K nejčastěji používané hydrofilní složce patří voda, ať už čištěná, sterilizovaná nebo voda pro injekce, dále ethanol a glycerol nejčastěji jako kosolventy. Pro perorální aplikaci lze použít sirupy a aromatické vody.

3.2.2.3 *Emulgátory*

Základní funkcí emulgátoru je snížení mezipovrchového napětí na rozhraní vodné a olejové fáze. Emulgátory se používají v malých koncentracích, přesto ale právě emulgátory určují, zda vznikne emulze typu o/v nebo v/o. Emulgátor tvoří na fázovém rozhraní kapek vnitřní fáze emulze film, který má vlastnosti mezifáze. Namísto poměrně velkého mezipovrchového napětí olej-voda vznikají, po přidání emulgátoru, v emulzi dvě menší nestejná mezipovrchová napětí. Výsledkem rozdílného napětí je zakřivení mezipovrchového filmu a následně vznik kapky, která do sebe uzavře vnitřní fázi.

Největší skupinu emulgátorů tvoří tenzidy, další skupiny tvoří emulgátory nepravé a nerozpustné. Zvláštní kategorii tvoří emulgátory komplexní.

Důležitou vlastností *tenzidů* je schopnost hromadit se na rozhraní fází a to již při nízké koncentraci. Mění energetické poměry fázového rozhraní a to se projevuje především snížením povrchového napětí. Tyto vlastnosti jsou dány strukturou jejich molekul, ať už fyzikální nebo chemickou. Zpravidla obsahují dvě části – lipofilní a hydrofilní. Lipofilní – nepolární část tenzidu odpuzuje vodu a v její přítomnosti se snaží uspořádat s ostatními lipofilními složkami takovou konfiguraci, která by umožnila tvorbu tzv. lipofilních kontaktů pomocí nevazebných interakcí. Lipofilní složku tenzidů tvoří obvykle uhlovodíkové zbytky alifatických alkanů a alkenů, zbytky aromatických sloučenin, především alkylovaných, dále také polymerovaný propylenglykol nebo silikonové řetězce.

Naopak hydrofilní polární části molekuly mají afinitu k vodě a ve vodném prostředí jsou v různé míře hydratovány. Vytváří se kolem nich solvatační obal

z molekul vody vázaných vodíkovými můstky. Míra této hydratace je přímo úměrná její polaritě. Hydrofilní části molekuly tenzidu tvoří aniont, resp. kationt, v tomto případě jsou tyto části disociovány, nebo se chovají jako amfolyt a jejich náboj je závislý na pH prostředí. Polární skupinou schopnou disociace je v tenzidech nejčastěji skupina karboxylová, sulfonová, amino skupina a kvartérní dusík. Jestliže polární skupina nepodléhá disociaci, jedná se o neiontogenní tenzid, takovou skupinou je například oxo skupina či hydroxy skupina, dále glukóza, glycerol, kyselina citrónová a další.

Podle schopnosti disociace tenzidů ve vodném prostředí se dělí na iontogenní (iontové) a neiontogenní (neiontové). Iontové tenzidy se dále dělí na anionaktivní, kationaktivní a amfolytické.

Nerozpustné emulgátory stabilizují emulzi tím, že jejich vrstva na fázovém rozhraní mechanicky brání koalescenci. Jedná se o práškované amfifilní látky, které jsou do jisté míry smáčeny olejovou i vodnou fází. K tomuto účelu se používá jak anorganických tak organických látek. Příkladem je koloidní oxid křemičitý, bentonit, oxid hlinitý nebo práškované uhlí.

Nepřevé emulgátory – viskozifianty – stabilizují emulzi zvýšením viskozity vnější fáze. Vyšší viskozita brání pohybu dispergovaných kapek a tím jejich koalescenci.

3.2.2.4 Viskozifianty

Problematicke viskozifiantů je věnována samostatná část 3.4 Viskozifianty.

3.2.2.5 Další složky emulzí

Obě kapalně fáze obvykle obsahují i další pomocné látky jako například antioxidanty, protimikrobní přísady, korigencia chuti a vůně (velmi často silice), barviva a v neposlední řadě léčiva.

Některé perorální emulze obsahují ve vnitřní fázi nutričně důležité látky jako bílkoviny, vitamíny apod.

Do emulzí typu o/v se jako protimikrobní látky zpravidla přidává methylparaben nebo kyselina sorbová.

Hydrofobní askorbylpalmitát, butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluen, galan propylnatý a tokoferylacetát a pro hydrofilní fázi kyselina askorbová, koenzym Q10 a siřičitany slouží jako antioxidační přísady.³

3.2.3 Metody přípravy emulzí

Základní metody pro výrobu emulzí jsou dvě: kontinentální metoda a metoda anglická.

Metoda kontinentální je charakterizována prvotní dispergací emulgátoru v té fázi, ve které je nerozpustný, tím vzniká koncentrovaná silně viskózní primární emulzní soustava, tzv. *emulzní jádro*. Následuje postupné přidávání budoucí vnější fáze, ve které je emulgátor rozpustný, za intenzivní emulgace.

Tato metoda se častěji využívá pro emulze typu o/v.

Na druhou stranu *metoda anglická* je vhodná pro přípravu obou základních typů emulzí jak o/v tak v/o. Vzniklý typ emulze je dán typem použitého emulgátoru.

V tomto případě se emulgátor smísí s budoucí vnější fází a poté se postupně přidává fáze vnitřní.

Méně často používanou metodou je postup přípravy s tvorbou emulgátoru „*in situ*“. Pro jednoduchost postupu a především kvalitu výsledného produktu, kdy tenzidem má být mýdlo, se s výhodou připravuje tenzid přímo ve vznikající emulzi. Tím je možno zajistit mírně alkalické prostředí, ve kterém je emulgátor stabilní.

Tímto postupem se připravují emulze k vnějšímu použití v laboratorních podmínkách.

Ve výrobě se striktní dělení metod nedodrжуje, ale využívá se různých kombinací daných postupů přípravy.

3.2.4 Vlastnosti emulzí

Barva a vzhled emulze je závislá na koncentraci a velikosti vnitřní fáze a na indexu lomu obou kapalných fází. Emulze jsou většinou kalné, při vyšší koncentraci až neprůhledné, mléčně zakalené. Transparentní emulze vznikají, pokud je index lomu obou fází stejný.⁷

Elektrická vodivost emulzí typu o/v odpovídá vodným roztokům, částice této emulze nesou záporný elektrický náboj. Naopak emulze typu v/o jsou vodivé jen velmi málo.

Viskozita emulze je ovlivněna koncentrací disperzního prostředí. U *zředěných emulzí* (disperzní podíl v tomto případě dosahuje maximálně 2% celkového objemu soustavy) je viskozita nezávislá na stupni disperzity, tzv. Newtonská kapalina.

Viskozita *koncentrovaných emulzí* (zde je disperzní podíl tvořen nedeformovanými sférickými kapkami a koncentrace tohoto podílu může dosáhnout až 74% objemu soustavy) závisí mnohem více na poměru objemů obou kapalných fází než pouze na viskozitě disperzního prostředí a uplatňuje se také viskozita emulgátoru, tzv. Neneutonská kapalina.⁸

3.2.5 Stabilita emulzních systémů

Fyzikální nestabilita emulzních systémů se projevuje krémovatěním, koalescencí inverzí fází emulze případně Ostwaldovým zráním (OZ) emulze. Řadu vlastností a chování emulzí však dosud nelze teoreticky předvídat a zjišťují se převážně empiricky.

Při **krémovatění** (u emulzí o/v) nebo **sedimentaci** (u emulzí v/o) dochází k odvrstvení fází v gravitačním poli podle jejich hustoty, přičemž mezipovrchový film tenzidů zůstává zachován. Vnitřní fáze zůstává zachována v podobě těsněji uspořádaných aglomerátů u dna u emulzí typu v/o, nebo naopak u hladiny, v případě emulzí o/v. Ke snížení krémovatění a tím ke zvýšení stability emulze se obvykle používá metody zvýšení viskozity vodné fáze vhodnou pomocnou látkou. Krémovatění, které lze někdy odstranit protřepáním emulze, může vést až ke koalescenci.

Koalescence emulze je děj, při kterém dochází k nevratnému splývání vnitřní fáze a zániku mezipovrchové vrstvy. Následuje úplné rozvrstvení soustavy podle hustot fází. Příčinou tohoto jevu je malá emulgační schopnost tenzidů, nedostatečná koncentrace emulgátoru, případně chemické změny emulgátoru v důsledku přidání inkompatibilní složky.

Inverze fází, tedy přechod jednoho typu emulze ve druhý, může být způsobena nevhodnou kombinací emulgátoru (inkompatibilita) s další složkou emulze. Druhou možností je změna teploty (teplota inverze). Mezipovrchový film zůstává zachován. Této vlastnosti emulzí se využívá při přípravě i výrobě.

Ostwaldovo zrání emulzí je spojování menších částic vnitřní fáze ve prospěch větších. Materiál, který tvoří mezifázové rozhraní u menší zanikající kapičky, se redistribuuje na větší kapičku. Tím dochází k nárůstu velikosti částic vnitřní fáze.

Mezipovrchový film zůstává zachován, ale emulzi již nelze vrátit do původního stavu roztřepáním, jako je tomu v případě krémovatění.^{10, 9}

3.2.6 Stabilizace emulzí

Stabilizace elektrickou dvojvrstvou se využívá jen u zředěných emulzí. Vznik elektrické dvojvrstvy je podmíněn přítomností kationtů a aniontů s různou rozpustností v obou fázích. Nejsou-li v systému přítomny elektrolyty, může elektrická dvojvrstva vzniknout i adsorpcí hydroxoniových nebo hydroxidových iontů z vody na fázovém rozhraní. S rostoucí tloušťkou dvojvrstvy a s rostoucím nábojem kapky se zvyšují odpudivé síly mezi kapičkami a tím je zabráněno koalescenci.

Stabilizace kapének elektrickou dvojvrstvou je v případě koncentrovanějších emulzí nedostačující. U těchto emulzí se využívá přidání třetí látky – *emulgátoru*. Emulgátor snižuje mezipovrchové napětí mezi olejovou a vodnou fází. Tím klesá i množství energie potřebné ke vzniku kapek. Zároveň tvoří soudržný elastický film na rozhraní obou fází a tím zabraňuje vzájemné koalescenci a flokulaci.¹⁰

Vyšší stability emulze je možno dosáhnout také zvýšením viskozity vnější fáze. K tomuto účelu se používají viskozifikanty či kvaziemulgátory.

3.3 Nanoemulze

Nanoemulze (NE) jsou definovány jako emulze typu o/v s průměrnou velikostí částic vnitřní fáze od 50 do 1 000 nm. Definice, a tím i rozmezí velikostí diskontinuální fáze, se liší od autora k autorovi. Obvykle se průměrná velikost částic uvádí v rozmezí 100 až 500 nm.¹¹

Někdy jsou pod pojmem nanoemulze v literatuře uváděny mikroemulze. Jedná se ovšem o dva rozdílné systémy. Pojem mikroemulze je používán pro termodynamicky stabilní rovnovážné transparentní systémy, zatímco NE jsou systémy nerovnovážné, s tendencí k projevům nestability pozorovaných u makroemulzí. I přesto jsou NE v porovnání s makroemulzemi stabilnější.¹²

3.3.1 Příprava nanoemulzí

Metody přípravy NE se dělí na kondenzační a stříhové. Ke kondenzačním metodám se řadí příprava pomocí nízkenergetických emulgačních metod (metoda anglická, kontinentální a metoda „in situ“), metoda inverze fází. K stříhovým metodám se řadí například vysokotlaká homogenizace, příprava ultrazvukem nebo mikrofluidizace.

V praxi je nejčastěji používanou metodou vysokotlaká homogenizace a mikrofluidizace. Obě metody mohou být využity jak v laboratorním, tak v průmyslovém měřítku.

Technikou **vysokotlaké homogenizace** je možné dosáhnout vzniku NE s neobyčejně malými rozměry vnitřní fáze (i kolem 1 nm). Makroemulze je protlačována vysokou rychlostí přes velmi malý otvor pod tlakem až 500 MPa. Štěrbina je nastavitelná. V řadě homogenizátorů kapalina po výstupu z otvoru naráží na tvrdý povrch umístěný kolmo ke směru jejího toku. Tím se nadále zvyšuje účinnost homogenizace. Tato technika má vysokou účinnost. Její nevýhodou je vysoká spotřeba energie a zvýšení teploty emulze v průběhu homogenizace.¹¹

Při **mikrofluidizaci** je makroemulze protlačována pod vysokým tlakem (až 500 MPa) přes mikrokánálky v přepážce a částice makroemulze dopadají na plochu (dopadová plocha), kde se sráží a tím se dále zmenšují. Makroemulze prochází mikrokánálky opakovaně, dokud není dosaženo požadované velikosti – rozměry NE. V závěru přípravy je objem získané NE přefiltrován k odstranění kapek větších rozměrů. Výsledkem je NE s homogenní velikostí částic.

Fázová inverze emulze může být jednoho nebo dvou typů: inverze emulzního typu v/o na o/v vyvolaná změnou teploty a/nebo způsobená změnou koncentrace emulgátoru. Při inverzi fází zůstává mezipovrchový film zachován.¹³

Obecně se kondenzační metody využívají spíše v laboratorních podmínkách. Získaná emulze nemá tak homogenní velikost vnitřní fáze jako emulze připravená metodami stříhovými.

3.3.2 Stabilita nanoemulzí

Stabilita NE se obecně udává jako vyšší než stabilita makroemulzí. Vyšší stabilita je dána právě rozměry vnitřní fáze (rozměry řádově v desítkách až stovkách nanometrů).

Rychlost Brownova pohybu malých kapiček je vyšší než sedimentační aktivita v gravitačním poli. Tím se zvyšuje odolnost vůči krémovatění emulze.

Hlavním destabilizačním mechanismem u NE je především Ostwaldovo zrání emulze. Děj je závislý na poloměru kulové plochy kapiček, na čase a na relativní míře rozpustnosti oleje ve vodné fázi za předpokladu, že kapičky jsou kulovité a jejich vzájemná vzdálenost je větší než jejich průměr.¹⁴

Vyšší stability je dosaženo u olejů, které se k vodné fázi chovají jako inertní látky.

3.4 Viskozifikanty

Viskozifikanty jsou látky, které zvyšují viskozitu disperzního prostředí tekutých disperzí nebo roztoků. Jsou důležitou součástí emulzí, které slouží k úpravě vlastností a stability systému.^{15, 16}

Ke zvýšení viskozity emulzí typu v/o se ve farmacii nejčastěji používá koloidní oxid křemičitý (Aerosil), koloidní kaolin, hořečnatá, hlinitá, zinečnatá a další mýdla.

U emulzí typu o/v se používají různé typy polymerů kyseliny polyakrylové, (Carbopoly, carbomery), akrylamidu, xanthanová guma a deriváty celulózy, např.: methylcelulóza, karboxymethylcelulóza nebo hydroxymethylcelulóza.

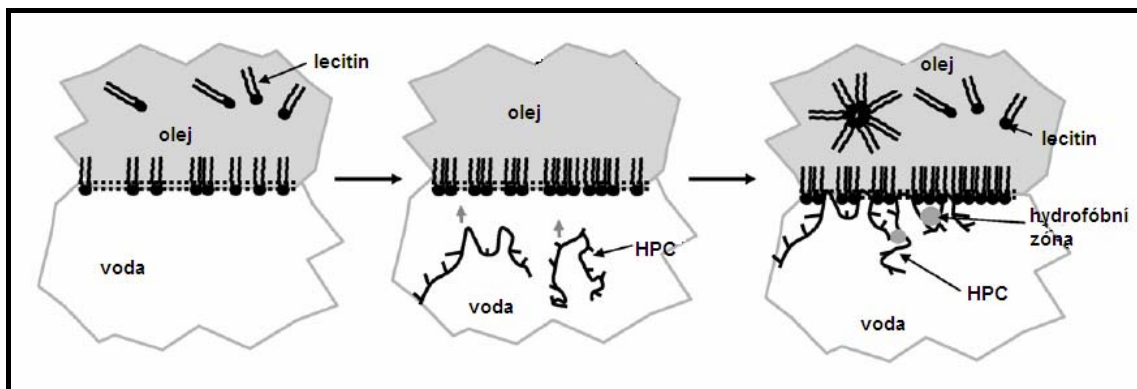
Dalšími látkami, které ovlivňují vnitřní strukturu emulze, jsou např. i blokové kopolymery ethylenoxidu a propylenoxidu, alkylované polymery akrylové kyseliny nebo kombinace tenzidů, které tvoří strukturu tekutých krystalů.

3.4.1 Polymerní viskozifikanty

Vliv polymerních viskozifikantů na vlastnosti systému je poměrně složitý. Dochází nejen k ovlivnění viskozity spojitě vnější fáze, což je žádoucí, ale dále i k adsorpci na mezipovrchovém rozhraní voda/olej a interakci s ostatními složkami systému. Tyto přídatné účinky viskozifikantů mohou vést naopak k destabilizaci celého systému.¹⁶

Zvýšení stability emulze je tedy závislé na koncentraci viskozifikantu. Při vyšších koncentracích viskozifikantů může polymer soutěžit s emulgátorem o místo na mezipovrchovém rozhraní fází. Kolem kapiček vnitřní fáze se tvoří koróna

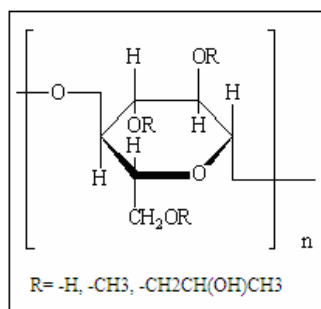
z hydrofobních řetězců polymeru, které se mohou vzájemně odpuzovat (Obrázek 1: Vliv polymeru na mezifázové rozhraní). Výsledkem je snížení elasticity mezifáze.¹⁷



Obrázek 1: Vliv polymeru na mezifázové rozhraní

Níže je uvedeno několik vybraných polymerních viskozifiantů.

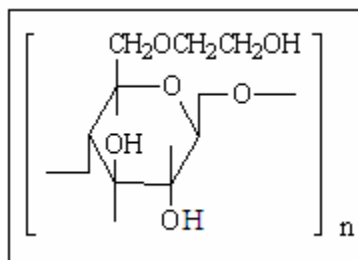
Hydroxypropylmethylcelulóza (HPMC), synonyma: Hypromellosem, Methocel
Jedná se o neiontový celulózový ether – částečně o-methylovaná a o-2-hydroxypropylovaná celulóza. Vlastnosti: Bílý, nažloutle bílý nebo šedobílý prášek nebo granule. Ve vysušeném stavu je hygroskopický, prakticky nerozpustný v horké vodě, v acetonu, v ethanolu, v etheru a v toluenu. Látka se rozpouští ve studené vodě za vzniku koloidního roztoku.¹⁸



Obrázek 2: HPMC¹⁹

Hydroxyethylcelulóza (HEC), synonyma: Hyetelosa.

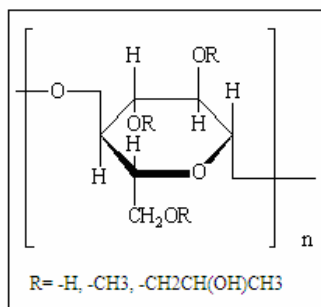
Jde o částečně 2-hydroxypropylovanou celulózu. Vlastnosti: Bílý nažloutle bílý nebo šedavě bílý prášek nebo granule. Je dobře rozpustný v horké vodě a ve studené vodě dává koloidní roztok. Je prakticky nerozpustný v acetonu, v lihu 96% a v toluenu.



Obrázek 3: HEC

Hydroxypropylcellulosa (HPC), Klucel

Jedná se o částečně 2-hydroxypropylovanou celulózu. Vlastnosti: Bílý nebo nažloutle bílý prášek nebo granule. Ve vysušeném stavu je hygroskopický, dobře rozpustný ve studené vodě, v kyselině octové ledové, v ethanolu, v methanolu, v propylenglykolu a ve směsi 10 objemových dílů methanolu a 90 objemových dílů dichlormethanu za tvorby koloidních roztoků, mírně rozpustný nebo těžce rozpustný v acetonu v závislosti na stupni substituce, prakticky nerozpustný v horké vodě, v ethylenglykolu a v toluenu. ,



Obrázek 4: HPC ²⁰

3.5 Analýza velikosti částic laserovou difrakcí (DLS)

Cílem všech metod měření velikosti částic je zajistit jednotné číslo, které svědčí o velikosti částic. Avšak částice jsou trojrozměrné objekty, které mají nejméně tři parametry (délka, šířka a výška) nezbytné pro úplný popis. Většina metod proto předpokládá, že měřený materiál je kulovitý a velikost částic se bere jako průměr "ekvivalentní koule", která by poskytla stejné výsledky, jako měřená částice.

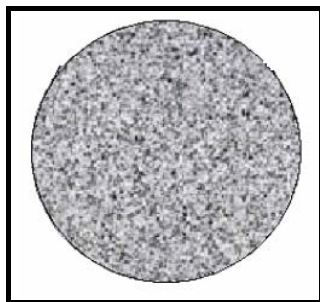
Pro měření velikosti a distribuce velikosti částic emulzí a molekul rozptýlených nebo rozpuštěných v kapalině lze s výhodou použít metodu laserové difrakce světla (DLS z anglického Dynamic Light Scattering)²¹

Tato metoda vychází z předpokladu kulovitého tvaru částic. Pro nesférické částice se stanoví ekvivalentní rozdělení odpovídající kulovitým částicím. Získané výsledky se tedy mohou lišit od výsledků získaných metodami, které jsou založeny na jiných fyzikálních principech (např. prosévání či sedimentace).

3.5.1 Princip

Při měření prochází laserový paprsek přes kyvetu, ve které se nachází měřený vzorek rozptýlený ve vhodném médiu, nejčastěji vodě. Vlivem přítomných částic dochází k ohybu (difrakci) laserového paprsku pod úhlem, jež je nepřímo úměrný jejich velikosti. S klesající velikostí částice, vzrůstá difrakční ohybový úhel logaritmičtě, zatímco intenzita záření klesá v závislosti na objemu částice.

Velké částice tedy způsobují ohyb laserového paprsku pod malým úhlem a paprsek dopadající na detektor má velkou intenzitu, zatímco malé částice způsobují difrakci laserového paprsku pod velkým úhlem, ale paprsek dopadající na detektor má nízkou intenzitu. Na detektoru vznikají skvrnité – difrakční obrazce. Tyto obrazce jsou převedeny na korelátor, který data dále analyzuje.

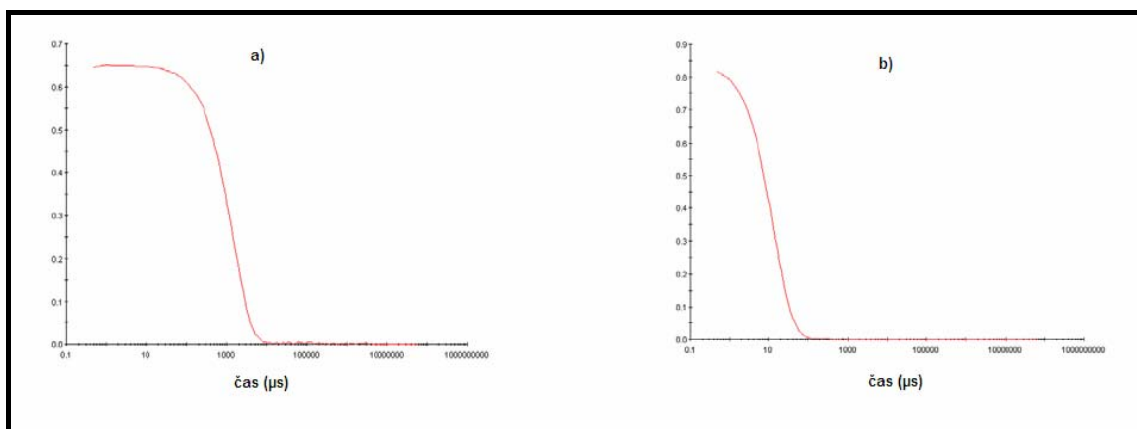


Obrázek 5: Skvrnitý obrazec

Obrazce jsou složeny ze světlých a tmavých míst a korelátor vyhodnocuje změny mezi dvěma obrazci. Světlá místa vznikají v obrazci tam, kde odražené paprsky dopadají na detektor ve stejné nebo násobné fázi. Dochází zde tedy ke skládání vln (interference). Tmavá místa vznikají tam, kde odražené světlo nedopadá na detektor ve stejné fázi.

Výstupem z korelátoru je graf, který ukazuje rychlost změny skvrnitého obrazce. Čím rychlejší je pohyb částic – částice jsou malé, tím rychlejší je změna obrazce a tím

je i výsledná křivka strmější (viz. Obrázek 6, graf b). Pro částice větší je korelogram méně strmý. (viz. Obrázek 6, graf a).



Obrázek 6: Ukázka korelogramů. Na ose y je odezva korelátoru. Na grafu a) je znázorněna pomalá odezva korelátoru a na grafu b) odezva rychlá – typická pro malé částice ²¹

Velikost částic je získána z korelačních funkcí pomocí různých algoritmů. Jednou z možností je proložení korelačních funkcí jednoduchou exponenciálou, tím je získána průměrná velikost částic (Z-average) a index polydisperzity (PdI), který poskytuje informace o šířce distribuční velikosti, je vypočítán ze signálů intenzity.

Změna obrazce je způsobena Brownovým pohybem částic ¹. Čím jsou částice menší, tím rychlejší je Brownův pohyb, a tím rychlejší je změna obrazce. Velikost částic je vypočítána ze Stokes - Einsteinovy rovnice s pomocí korelačního difuzního koeficientu:

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D}$$

Kde je: $d(H)$ – velikost částice

D – translační difuzní koeficient

k – Boltzmannova konstanta

T – absolutní teplota

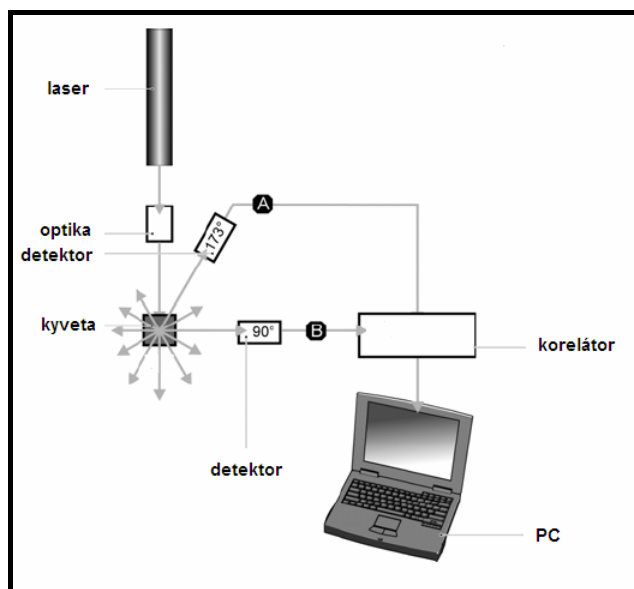
η – viskozita

¹ **Brownův pohyb** je náhodný neuspořádaný pohyb mikroskopických částic v kapalném nebo plynném médiu. Částice v roztoku se vlivem tepelného pohybu neustále srážejí, směr a síla těchto srážek jsou náhodné, a tím i okamžitá poloha částice je náhodná. Rychlost Brownova pohybu je přímo úměrná teplotě systému a nepřímo úměrná velikosti částic a viskozitě.

DLS je neinvazivní metodou – měřený vzorek není v přímém kontaktu s měřicí optikou.²²

3.5.2 Přístrojové vybavení

Přístroj pro laserovou difrakci se skládá ze zdroje monochromatického světla – laseru (nejčastěji helium-neonový) s konstantní vlnovou délkou 633 nm. Z optiky, která upravuje intenzitu prostupujícího laserového paprsku. Další součástí je zóna (nebo cela) pro měření vzorku – kyveta, Fourierova čočka a detektor pro zachycení difrakčního obrazce. Detektor může být v uspořádání v úhlu 90° nebo 173° v závislosti na modelu přístroje. Difrakční obrazec je předáván do korelátoru. Nezbytné je také softwarové vybavení, které shromažďuje údaje z korelátoru a prezentuje výsledky.²²



Obrázek 7: Uspořádání měřícího systému, kde cesta A je pro detekci v úhlu 173° a cesta B pro detekci pod úhlem 90° ²¹

3.5.3 Nové technologie

Emulze je obtížné dodatečně ředit nebo upravovat pro měření, aniž by nedošlo ke změně jejich základního charakteru. Moderní technologie umožňují jejich měření při zachování původního stavu systému.

Nové technologie umožňují měřit širší rozsah velikostí a koncentrací díky detekci pomocí rozptylu laserového paprsku pod úhlem 173° , jinak známého též pod názvem detekce zpětného rozptylu světla, na rozdíl od staršího méně citlivého uspořádání pod úhlem 90° .

Oproti staršímu uspořádání existuje hned několik výhod pro použití detekce pod úhlem 173° .

Laserový paprsek nemusí cestovat přes celý vzorek. Snižuje se nepřesnost měření v důsledku rozptylu světla o další částice vzorku.

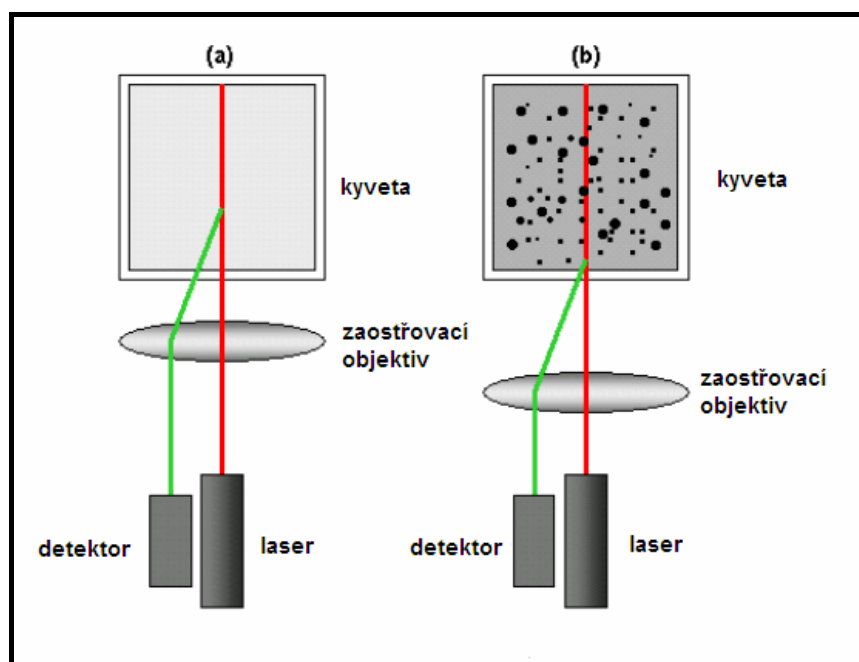
Tím, že laser vykoná jen kratší cestu, je umožněno měření i vyšších koncentrací vzorku.

Kontaminanty vzorku, jako jsou prachové částice, jsou ve srovnání s velikostí částic vzorků, značně větší. Způsobují proto rozptyl světla především v dopředném směru. Proto je u detekce zpětného rozptylu negativní působení kontaminantů na výsledné hodnoty eliminováno.²²

3.5.4 Variabilita místa měření

Pozice vhodná pro měření může být u novějších technologií automaticky měněna softwarem pomocí zaostřovacího optického systému.

Pro malé částice, nebo zředěné vzorky, je vhodnější maximalizovat množství rozptylu, proto je měření prováděno dále od stěny kyvety. Naopak pro vzorky koncentrované, neprůhledné nebo obsahující velké částice, je výhodnější měření blízko stěny kyvety.



Obrázek 8: Schéma znázorňující polohu při měření pro (a) zředěné vzorky a pro (b) vzorky s vyšší koncentrací či velikostí částic.²²

3.6 Centrifugace

Stabilita emulzí je často hodnocena sledováním separace nebo koalescence fází v závislosti na čase. Značné časové prodlevy a nejistota úplného rozdělení fází jsou však nevýhodami, kvůli kterým je tento postup volen jen u nestabilních emulzí. Pro stabilní emulze se dnes ve většině případů volí metoda centrifugace.²³

Centrifugace je založena na deemulgačním procesu v rámci stálé odstředivé síly. Stanoví se nejnižší možná rychlost, která je potřebná k oddělení fází, tzv. kritický tlak. Tento kritický tlak je ekvivalentní k silám, které způsobují separaci fází případně koalescenci.²⁴

Centrifugace emulzí může být využita ke dvěma účelům. První možností je urychlení ustálení rovnováhy v emulzi – urychlení kinetiky ve vztahu ke krémovatění. Tento proces je reverzibilní. Druhá varianta nabízí možnost ireverzibilního oddělení fází podle jejich hustot. Odstředivá síla je tak velká, že dochází k překonání mezipovrchového napětí a v emulzi dochází ke koalescenci.

Jestli dojde pouze ke krémovatění nebo k flokulaci emulze záleží na podmínkách centrifugace – na vyvinuté odstředivé síle – tedy na rychlosti a čase centrifugace. Nízká odstředivá rychlost vede ke krémovatění a vysoká vede ke koalescenci.²⁵

3.7 Měření viskozity kapilárním viskozimetrem

Stanovení viskozity pomocí vhodného kapilárního viskozimetru se provádí při teplotě $(20 \pm 0,1)^\circ\text{C}$, není-li předepsáno jinak. Čas potřebný k tomu, aby hladina kapaliny klesla od jedné značky ke druhé, se měří stopkami s přesností na 0,2 sekundy. Měření je platné, pokud se dvě po sobě jdoucí měření neliší o více než 1%. Pro výpočet se bere průměr nejméně ze tří měření doby průtoku zkoušené kapaliny mezi body E a F.

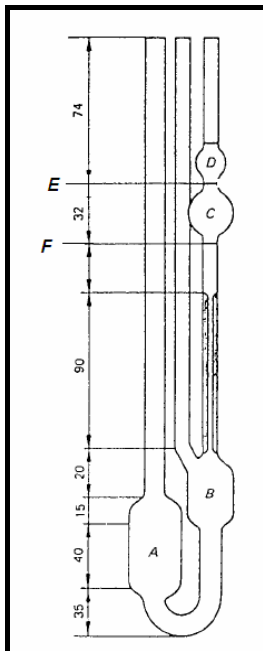
Kinematická viskozita η ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) se vypočítá podle vzorce:

$$\eta = kt$$

v němž značí:

k – konstantu viskozimetru vyjádřenou v milimetrech čtverečných na sekundu na druhou (mm^2s^{-1})

t – dobu průtoku zkoušené kapaliny v sekundách



Obrázek 9: Ubbelohdeův kapilární viskozimetr ²⁶

3.8 Využití emulzí a nanoemulzí

Uplatnění emulzí a NE nejen ve farmacii je velmi široké. Farmaceutické emulze nemají v lékopisech svůj vlastní článek, ale dle způsobu aplikace spadají pod různé články. Tvoří podskupiny v článcích *Liquida ad usum dermicum* (Tekutiny pro kožní aplikaci), *Liquida peroralia* (Perorální tekutiny) a v článku *Parenteralia*.

Emulze k zevní aplikaci na kůži se dále člení na *Lotiones* – omývadla a *Linimenta* – mazání s vyšší zdánlivou viskozitou. Podle složení a typu emulze je možné uplatnit hydratační, emolientní, případně až okluzivní efekt a tím dotvářet terapeutický efekt dermatologických přípravků. K topické aplikaci na kůži se používají lékopisné *Linimentum calcis* či *Linimentum ammoniatum*, z dalších je to například masážní emulze a kosmetická plet'ová mléka.

U perorálních emulzí se využívá jejich schopnosti maskovat nepříjemnou chuť nebo zápach léčivé látky. Další výhodou je lepší biodostupnost některých lipofilních látek ve srovnání s jinými lékovými formami. Nejčastěji se jedná o emulze typu o/v. Využívají se především při podání lipofilních léčiv pediatrickým nebo geriatrickým pacientům nebo k podání tekuté stravy při malnutrici či k podání laxativně působícího ricínového nebo parafinového oleje.

Parenterální emulzní přípravky se používají k prodlouženému uvolňování, a tím i k prodloužení účinku léčivých látek. Pouze subdermálně nebo intramuskulárně se podávají emulze typu v/o. Typ o/v je možné podat všemi parenterálními aplikačními cestami.

3.8.1 Využití nanoemulzí ve farmacii

Ve farmaceutické oblasti je vývoj nanoemulzních systémů zatím nejrozsáhlejší. Prakticky všechny práce zabývající se NE hovoří o velkém potenciálu a přínosu těchto aplikačních forem.

NE jsou používány jako nosná média v *transdermální aplikaci* léčivých látek. Vzhledem ke svému lipofilnímu vnitřnímu prostředí jsou NE, na rozdíl od lipozomu^{II}, vhodnější k aplikaci lipofilních látek. Podobně jako lipozomy mohou vezikuly NE pronikat do pokožky a tím zvyšovat koncentraci látek rozpuštěných v lipofilní fázi v pokožce. Běžné topické aplikační formy, jako jsou masti, emulze nebo gely, často obsahují pomocné látky, které napomáhají penetraci do pokožky. Tyto látky jsou ovšem většinou dráždivé a mohou vést k alergické reakci a až poškození pokožky především při chronické aplikaci. Nejenže NE neobsahují přidané dráždivé látky, ale navíc je vyšší jejich transdermální permeace. Tím je lepší i dostupnost léčiva v místě aplikace.²⁷

Své uplatnění našly NE také v *oftalmologii*. NE jsou výhodné pro podání léčiv dráždivých a léčiv, které jsou v kapkách v ionizované formě, což není vhodné pro dobrou penetraci léčiva. U NE je lipofilní léčivo rozpuštěno v olejové fázi emulze. Po aplikaci se vytváří depo ve spojivkovém vaku, z kterého se léčivo uvolňuje postupně. Tím lze snížit četnost aplikace ze tří denních podání na jedno. Také je snížena toxicita.²⁸

Největší pozornost je v současnosti věnována možnosti využití NE jako nosičů léčiv *k systémovému podání* s možností cílené distribuce léčiva. Po aplikaci jsou

^{II} **Lipozomy** jsou lipidové, zejména fosfolipidové, vezikuly. Stěnu lipozomu tvoří fosfolipidová dvojvrstva uspořádaná tak, že na povrchu membrány jsou hydrofilní polární skupiny, zatímco lipofilní řetězce tvoří vnitřní část dvojvrstvy. Vnitřní prostředí liposomů je tedy hydrofilní.³

nanočástice emulze fagocytovány makrofágy a jsou distribuovány ve vysokých koncentracích do jater, ledvin a sleziny. Tím, že je léčivo uzavřeno v kapičce NE, není v přímém kontaktu s vnitřním prostředím a léčivo je uvolňováno do cílové oblasti postupně.²⁹

U léčiv podaných ve formě NE se zvyšuje biodostupnost z trávicího traktu po perorálním podání a dostupnost po intravenózním podání je také vysoká. Přestup přes hematoencefalickou bariéru je také vyšší. Nedochází k buněčnému efluxu (prostřednictvím např.: P-glycoproteinu), který vede k rezistenci k léčbě. Dále se díky této lékové formě zpomaluje eliminace léčiva z organismu. Těchto vlastností je využito při léčbě mnoha onemocnění, především při léčbě, u které dochází k rychlému rozvoji rezistence (např.: léčba HIV).³⁰

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

SUROVINY	VÝROBCE (či DODAVATEL)
Emulze č.: 250708	Biomedica, spol. s.r.o., Praha, ČR
Emulze č.: 260708	Biomedica, spol. s.r.o., Praha, ČR
Emulze č.: 270708	Biomedica, spol. s.r.o., Praha, ČR
Emulze č.: 280708	Biomedica, spol. s.r.o., Praha, ČR
HEC - Natrosol HHX, 1300000 g/mol	Aqualon, Rijswijk, Nizozemsko
HPC - Klucel HF, 850 000 g/mol	Aqualon, Rijswijk, Nizozemsko
HPMC Metolose 90SH, 700000 g/mol	Syntapharm, Mühlheim, Německo
Voda pro injekce	Ardeapharma, a. s.

Výše uvedené používané komerčně dostupné suroviny odpovídaly deklarované jakosti podle daných norem výrobců, resp. dodavatelů. Složení jednotlivých emulzí viz kapitola 4.1.1 – Složení emulzí o/v. Klucel je hydroxypropylcelulóza (HPC), metolose je hydroxy-propylmethylcelulóza (HPMC) a natrosol je hydroxyethylcelulóza (HEC).

4.1.1 Složení emulzí o/v

Číslo šarže	Koncentrace	Emulgátor	Olej	Antioxidanty
250708	20%	SL	sójový	selenmethionin
			lněný	kys. citrónová
			olivový	glutathion
			z řas	koenzym Q10
			hadincový	askorbyl palmitát
260708	20%	SL	lněný	selenmethionin
			olivový	kys. citrónová
			z řas	glutathion
			hadincový	koenzym Q10
				askorbyl palmitát
270708	30%	SL	sójový	
			lněný	
			olivový	
			z řas	
			hadincový	
280708	30%	SL	lněný	
			olivový	
			z řas	
			hadincový	

SL – sójový lecithin (1,7 %)

4.2 Přístroje a pomůcky

PŘÍSTROJE	VÝROBCE
Analytické váhy	Sartorius, Göttingen, Německo
Centrifuga EBA 20	Hettich Zentrifugen, Německo
Fotoaparát Canon Powershot A540	Canon, Malaysia
Jednorázové kyvety	Brand, Wertheim, Německo
Kapilární viskozimetr	Sklárny Kavalier, Držkov, ČR
Kombinovaná lednice s mrazničkou	Liebherr, Ochsenhausen, Německo
Laminární box Hela Flow 30	Helago, Hradec Králové, ČR
Magnetická míchačka MM 2A	Laboratorní přístroje, Praha, ČR
Předvážky Kern 440-33	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Předvážky Kern 440-53-N	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Termostat Biological termostat 50L	Laboratorní přístroje, Praha, ČR
Ultra-turrax IKA T 10 basic	IKA® Werke GmbH & Co, Německo
Zetasizer nano ZS	Malvern, Worcestershire, UK

4.3 Složení a příprava emulzních vzorků

K vlastnímu měření vlivu přídavku viskozifiantů na vlastnosti NE byly připraveny emulzní vzorky z výše uvedených emulzí a polymerů jakožto viskozifiantů. Jednotlivé vzorky se lišily použitou emulzí a koncentrací přidaného viskozifiantu. Konkrétně se jednalo o tyto koncentrace: 0,00; 0,15; 0,33; 1,33; 2,00; a 3,33 ‰.

Jednotlivé vzorky byly pro účely měření označeny podle následujícího kódu:

XX/YZ,

kde XX jsou první dvě čísla z označení emulze, Y je označení pro viskozifiant a Z značí koncentraci viskozifiantu.

Tabulka 1: Význam hodnoty Y a Z

Y	Viskozifiant
0	HPMC
1	HEC
2	HPC

Z	Koncentrace viskozifiantu (‰)
1	0,00
2	0,15
3	0,33
4	1,33
5	2,00
6	3,33

Tabulka 2: Příklad označení a složení emulzních vzorků

Vzorek	Emulze	Viskozifiant 1% HPMC	Voda	Koncentrace viskozifiantu
25/01, 26/01, 27/01, 28/01	5,0	0,000	2,500	0,00 ‰
25/02, 26/02, 27/02, 28/02	5,0	0,125	2,375	0,15 ‰
25/03, 26/03, 27/03, 28/03	5,0	0,250	2,250	0,33‰
25/04, 26/04, 27/04, 28/04	5,0	1,000	1,500	1,33 ‰
25/05, 26/05, 27/05, 28/05	5,0	1,500	1,000	2,00 ‰
25/06, 26/06, 27/06, 28/06	5,0	2,500	0,000	3,33 ‰

Příprava emulzních vzorků

A. Viskozifianty

1. Příprava 1% roztoku viskozifiantů

B. Emulzní vzorky

1. Přidání příslušného množství roztoku viskozifiantu k emulzi.
2. Doplnění vodou na hmotnost 7,5 g.
3. Důkladné promíchání na magnetické míchače za normální teploty.

Příprava 1% viskozifiantu

Složení:	viskozifiant	0,5
	Aqua pro injectione	ad 50,0

1. Dispergace příslušného množství HPC a HPMC v horké vodě a HEC ve vodě studené
2. Zahřátí HEC a následné chlazení všech roztoků na laboratorní teplotu za stálého míchání na magnetické míchače.
3. Doplnění roztoků na konečný objem 50,0 g.

Poznámka: Příprava jednotlivých vzorků a veškerá manipulace s NE vzorky byla realizována v aseptickém prostředí laminárního boxu.

4.4 Měření velikosti částic

Velikost částic ve vzorcích byla měřena laserovou difrakcí. Vzorek o objemu 1 mililitru získaný po promíchání zkumavky a odebrání do kyvety byl měřen za definovaných podmínek: Jako disperzní prostředí byla zvolena voda o dané viskozitě $0,8872 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$ a indexu lomu 1,330. Teplota vzorku byla temperována na 25°C. Nejvhodnější poloha měření ve vzorku byla systémem určena automaticky pro každý vzorek zvlášť. Stanovení bylo systémem provedeno ve třech po sobě jdoucích měřeních pro každý vzorek. Pro účely měření byly použity jednorázové polystyrenové kyvety.

Získané hodnoty byly dodatečně upraveny změnou viskozity předdefinované systémem na viskozitu, která byla naměřena pro jednotlivé koncentrace polymerů.

4.5 Centrifugace

Vzorky byly před centrifugací promíchány několikanásobným otočením zkumavky. Samotná centrifugace probíhala rychlostí 3000 otáček za sekundu v celkovém čase 10 minut. Po každé minutě byly vzorky z centrifugy vyndány a vyfotografovány.

4.6 Homogenizace

Každý vzorek byl homogenizován přístrojem Ultra-turax po dobu 1 minuty s použitím nástavce S10N-10G. Rychlost se pohybovala v rozmezí 29 900 až 30 000 otáček za minutu. Následovalo druhé měření velikosti částic za podmínek uvedených v části 4.4. Měření velikosti částic.

4.7 Stanovení viskozity

Viskozita byla měřena pomocí kapilárního viskozimetru. Vzorky byly vytemperovány na teplotu 20°C. Pro každý vzorek byla vypočítána průměrná kinematická viskozita z minimálně tří po sobě jdoucích měření, přičemž naměřené hodnoty se nesměly lišit o více jak 1 %.

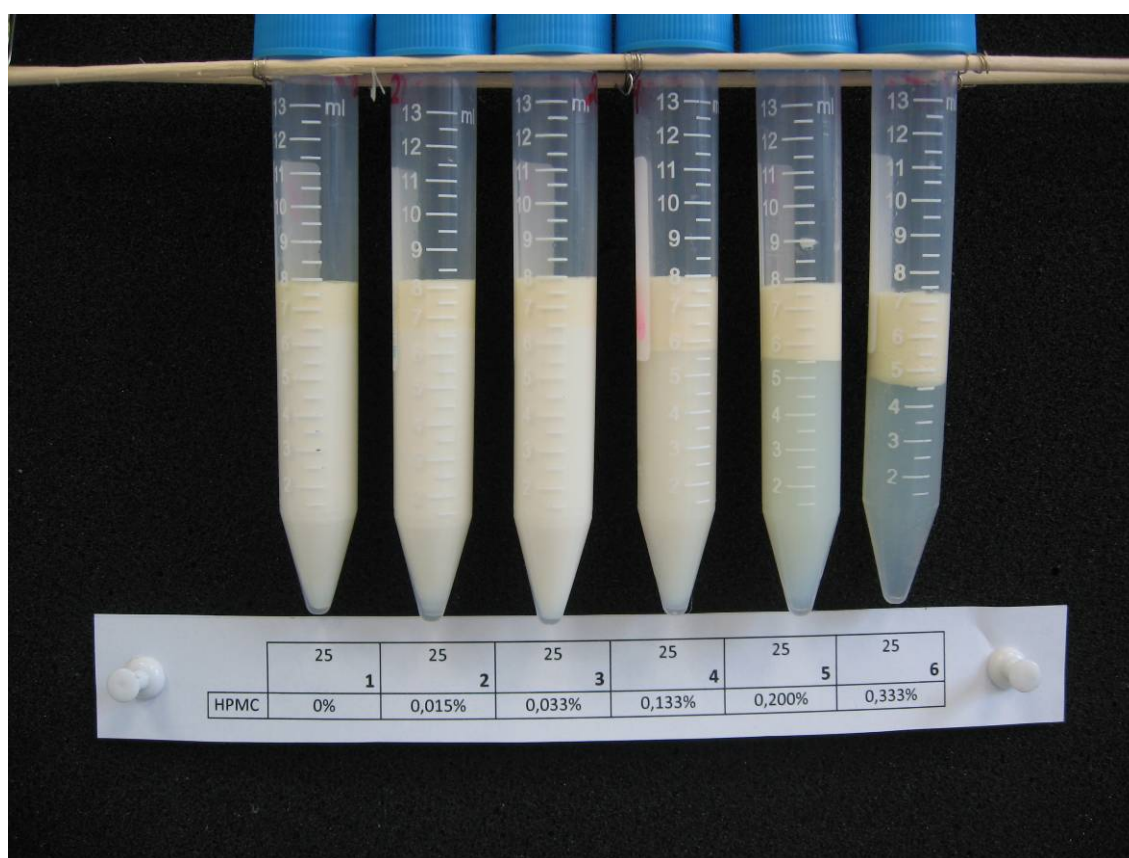
4.8 Výsledky měření

Všechny získané hodnoty jsou uvedeny v části 5-DOKUMENTACE a 6-VÝSLEDKY A DISKUZE.

5 DOKUMENTACE

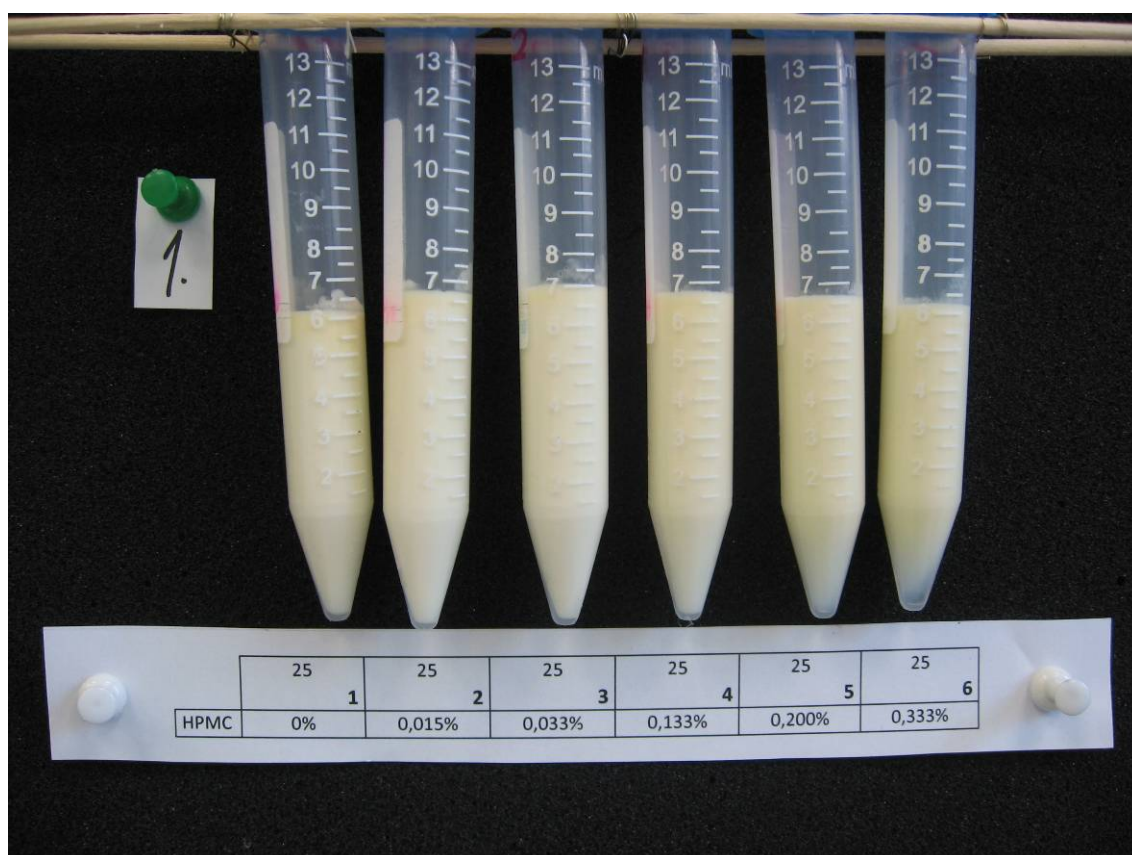
5.1 Centrifugace emulzí

Níže jsou pro ilustraci uvedeny snímky, které byly pořízeny vždy po minutě centrifugování, jen pro vzorky připravené z emulze číslo 25 s HPMC jako viskozifikantem. První snímek je pořízen před centrifugací a před odebráním 1 mililitru potřebného k měření částic. Proto je obsah zkumavek na fotografiích na obrázcích číslo 11 až 20 o něco menší.

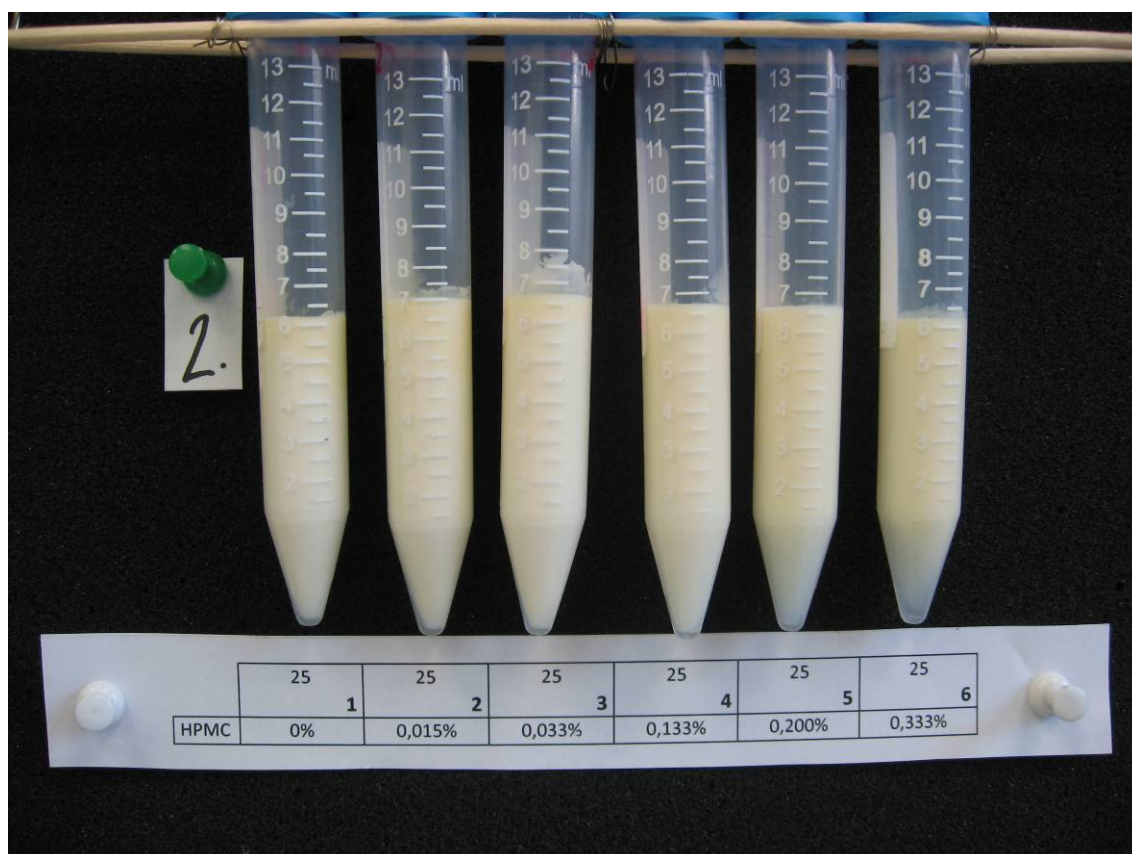


Obrázek 10: Vzorky před centrifugací

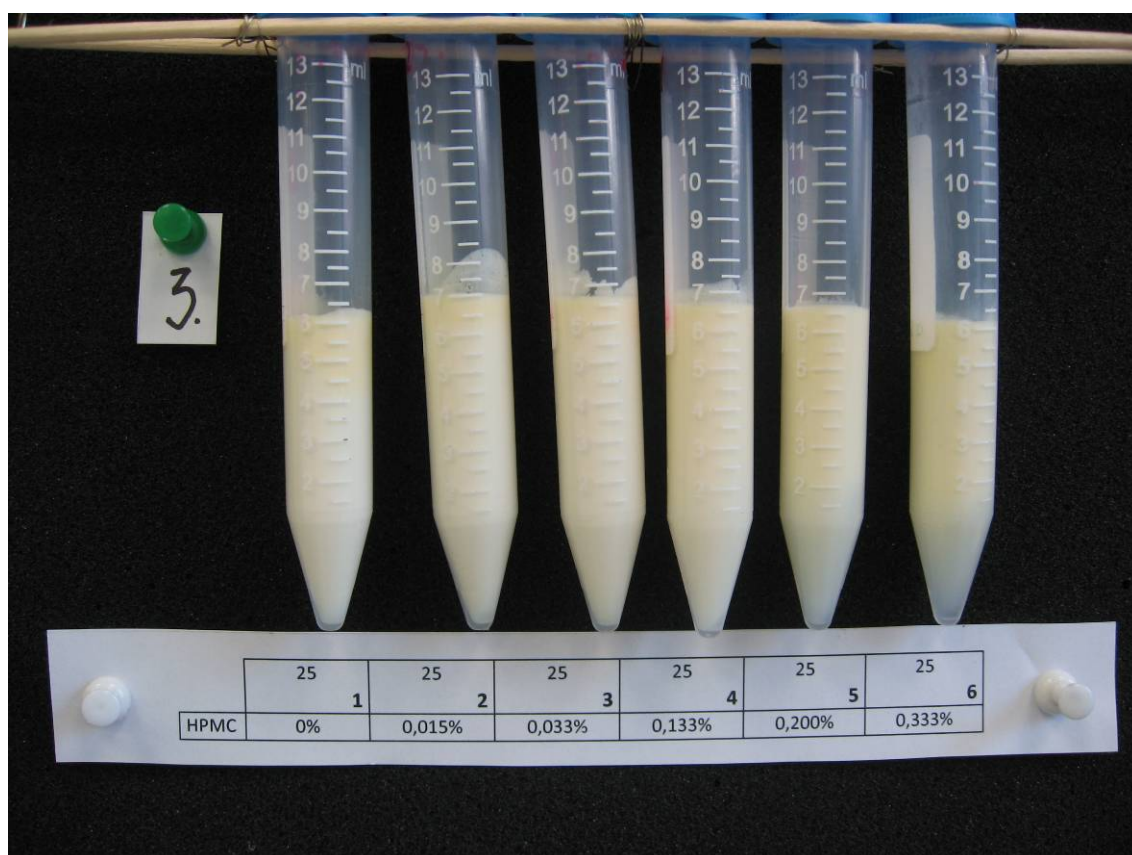
Poznámka: Obsah zkumavek byl před centrifugací jemným protřepáním promíchán.



Obrázek 11: Vzorky po 1. minutě centrifugace



Obrázek 12: Vzorky po 2. minutě centrifugace



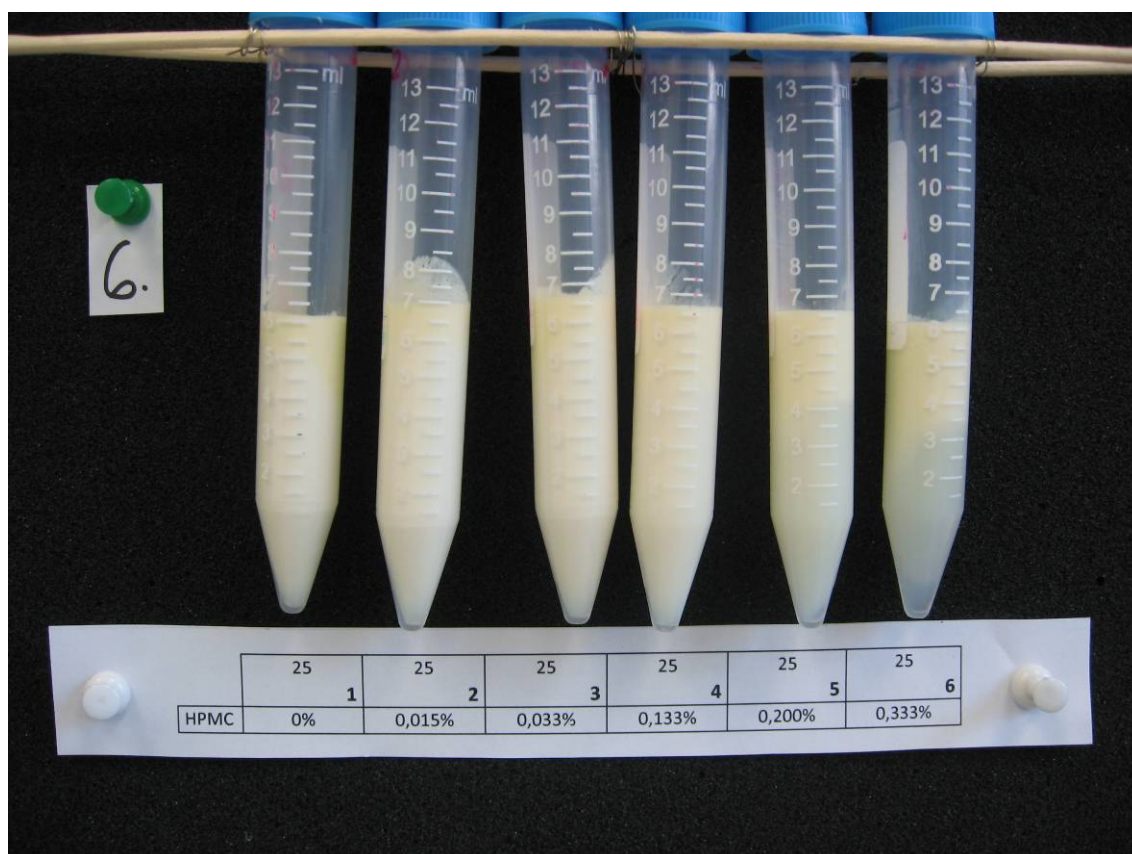
Obrázek 13: Vzorky po 3. minutě centrifugace



Obrázek 14: Vzorky po 4. minutě centrifugace



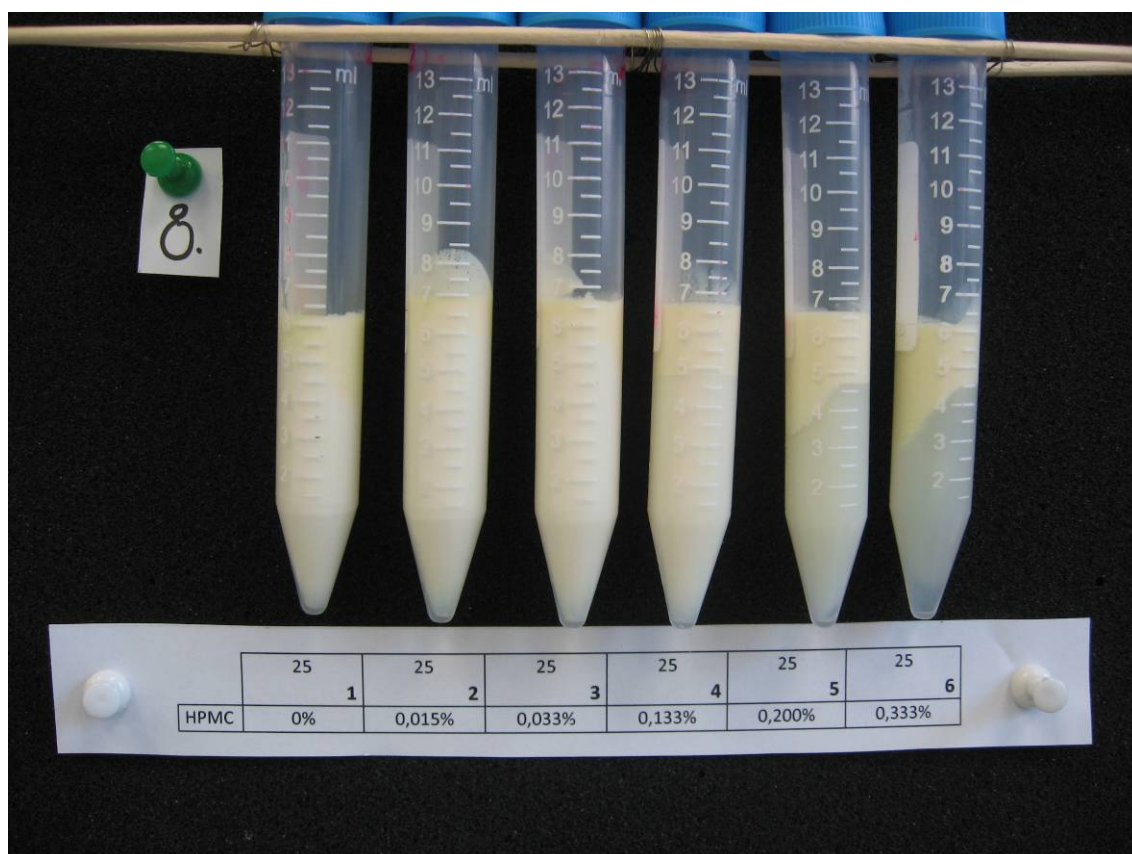
Obrázek 15: Vzorky po 5. minutě centrifugace



Obrázek 16: Vzorky po 6. minutě centrifugace



Obrázek 17: Vzorky po 7. minutě centrifugace



Obrázek 18: Vzorky po 8. minutě centrifugace



Obrázek 19: Vzorky po 9. minutě centrifugace



Obrázek 20: Vzorky po 10. minutě centrifugace

5.2 Homogenizace emulzí

Pro ilustraci je uveden pouze jeden snímek. Vliv homogenizace na NE bude rozveden v části 6 – Výsledky a diskuze.



Obrázek 21: Vzorky po homogenizaci

Poznámka: Obsah zkumavek je oproti obsahu zkumavek na snímcích v částech 5.1 a 5.2 menší. To je zapříčiněno tím, že v období mezi pořízením snímků, byl z obsahu zkumavek odebrán vzorek pro měření velikosti částic, který již nebyl do zkumavek zpět vrácen.

5.3 Měření velikosti částic emulzí

5.3.1 Protokoly

Na následujících dvou stranách je pro demonstraci ukázka protokolů získaných ze Zetasizeru Nano ZS. První je získán měřením za předdefinované viskozity a druhý je získán úpravou této viskozity na viskozitu naměřenou. V grafu jsou barevně odlišeny tři měření pro jeden vzorek, ze kterých je následně získána průměrná hodnota velikosti částic používaná pro účely této práce.

Size Distribution Report by Intensity

v2.0



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: 25/03 3

SOP Name: fat emulsion 25 AK.sop

General Notes: Fat Emulsions Biomedica s viskozifiantem
+ 0,030% HPMC

File Name: abu.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 9

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,48

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,30

Measurement Date and Time: 1. dubna 2009 14:59:39

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 429,6

Measurement Position (mm): 0,85

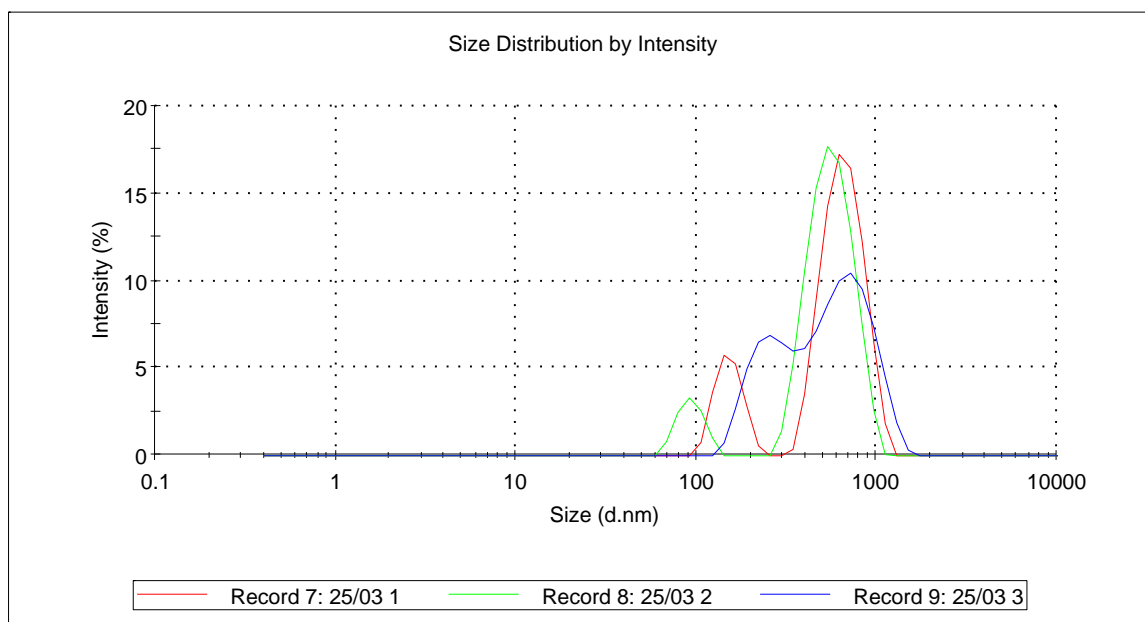
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 2

Results

		Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 400,2	Peak 1:	676,9	67,8	242,6
Pdl: 0,441	Peak 2:	252,2	32,2	58,18
Intercept: 0,819	Peak 3:	0,000	0,0	0,000

Result quality Good



Size Distribution Report by Intensity

v2.0



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: 25/03 3

SOP Name: fat emulsion 25 AK.sop

General Notes: Fat Emulsions Biomedica s viskozifiantem
+ 0,030% HPMC

File Name: abu.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 767

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,48

Viscosity (cP): 2,2579

Material Absorbtion: 0,30

Measurement Date and Time: 1. dubna 2009 14:59:39

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 429,6

Measurement Position (mm): 0,85

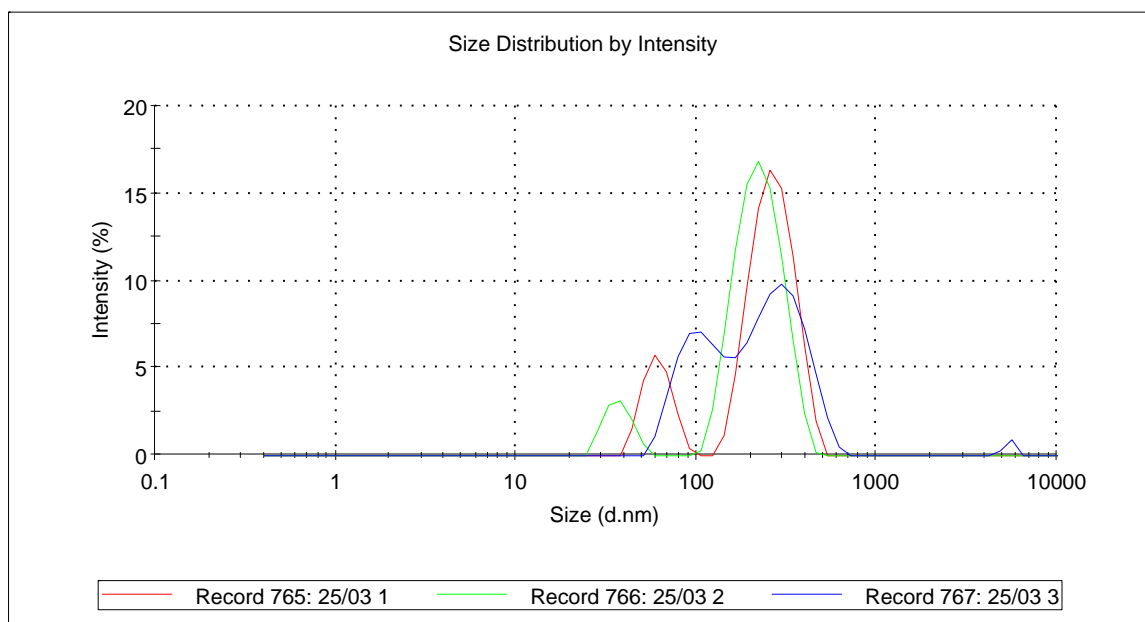
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 2

Results

		Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 157,2	Peak 1:	298,7	59,3	99,16
Pdl: 0,441	Peak 2:	110,7	39,5	30,93
Intercept: 0,819	Peak 3:	5383	1,1	320,6

Result quality Good



5.3.2 Velikost částic

Naměřené hodnoty velikosti částic jsou uspořádány do tabulek 3 až 5. Vzorky měřené po homogenizaci jsou označeny (**ut**). V tabulkách jsou uvedeny i směrodatné odchylky před homogenizací σ a po homogenizaci σ (**ut**).

Tabulka 3: Velikost částic a směrodatné odchylky (σ) s HPMC jako viskozifiantem

číslo vzorku	HPMC (‰)	velikost částic σ	velikost částic (ut) σ (ut)
25/01	0,00	176,50 \pm 2,3516	165,37 \pm 3,2036
25/02	0,15	205,60 \pm 15,1218	204,00 \pm 9,9353
25/03	0,33	166,40 \pm 8,5860	169,53 \pm 5,1033
25/04	1,33	193,10 \pm 14,9643	119,03 \pm 13,3665
25/05	2,00	294,70 \pm 7,8083	228,13 \pm 26,5255
25/06	3,00	285,73 \pm 26,7623	245,83 \pm 59,2568
26/01	0,00	182,97 \pm 2,3861	171,63 \pm 1,9858
26/02	0,15	189,77 \pm 7,2748	185,33 \pm 2,9263
26/03	0,33	170,37 \pm 10,9569	172,20 \pm 10,1484
26/04	1,33	176,60 \pm 49,9709	209,20 \pm 6,6461
26/05	2,00	292,83 \pm 24,2203	311,87 \pm 6,1890
26/06	3,00	318,53 \pm 4,9803	407,00 \pm 217,7608
27/01	0,00	202,20 \pm 3,2357	193,93 \pm 4,4117
27/02	0,15	230,43 \pm 5,2272	230,03 \pm 5,8960
27/03	0,33	207,33 \pm 18,9637	212,63 \pm 19,5771
27/04	1,33	415,77 \pm 29,9617	431,93 \pm 87,3666
27/05	2,00	400,37 \pm 20,7599	400,90 \pm 23,3711
27/06	3,00	296,57 \pm 32,9579	285,60 \pm 21,4049
28/01	0,00	216,13 \pm 3,1880	205,63 \pm 2,2723
28/02	0,15	224,53 \pm 12,1080	231,13 \pm 7,2404
28/03	0,33	183,77 \pm 9,7521	186,83 \pm 6,7686
28/04	1,33	259,53 \pm 6,7678	242,10 \pm 19,0596
28/05	2,00	285,93 \pm 30,6440	254,10 \pm 31,8113
28/06	3,00	253,30 \pm 9,5284	1884,67 \pm 311,5066

Tabulka 4: Velikost částic a směrodatné odchylky (σ) s HEC jako viskozifiantem

číslo vzorku	HEC (‰)	velikost částic σ	velikost částic (ut) σ (ut)
25/11	0,00	179,17 \pm 2,1733	175,13 \pm 0,6658
25/12	0,15	182,70 \pm 0,7937	172,00 \pm 2,5239
25/13	0,33	161,63 \pm 7,6061	147,33 \pm 4,2595
25/14	1,33	117,03 \pm 25,5730	93,36 \pm 11,2441
25/15	2,00	198,80 \pm 34,3232	215,37 \pm 15,2106
25/16	3,33	81,48 \pm 14,8041	57,15 \pm 2,8079
26/11	0,00	179,30 \pm 2,1378	171,23 \pm 3,4990
26/12	0,15	177,00 \pm 3,7723	167,07 \pm 0,7506
26/13	0,33	165,67 \pm 14,7967	149,90 \pm 4,0780
26/14	1,33	305,17 \pm 24,3023	241,00 \pm 14,7000
26/15	2,00	113,09 \pm 30,7631	90,43 \pm 17,9030
26/16	3,33	215,60 \pm 9,6130	230,33 \pm 16,0313
27/11	0,00	207,00 \pm 2,1932	190,80 \pm 3,8118
27/12	0,15	208,60 \pm 0,7000	189,87 \pm 1,9140
27/13	0,33	191,80 \pm 5,0388	172,97 \pm 5,3575
27/14	1,33	310,60 \pm 24,3045	299,63 \pm 10,1933
27/15	2,00	263,17 \pm 10,1195	219,03 \pm 23,4926
27/16	3,33	282,93 \pm 54,9590	247,03 \pm 14,8541
28/11	0,00	223,07 \pm 5,9501	200,20 \pm 8,8696
28/12	0,15	207,30 \pm 0,2646	187,13 \pm 5,0501
28/13	0,33	178,43 \pm 3,6950	162,57 \pm 3,0022
28/14	1,33	106,88 \pm 10,8689	96,29 \pm 3,9217
28/15	2,00	144,93 \pm 8,7535	91,02 \pm 9,0818
28/16	3,33	221,50 \pm 12,6760	136,83 \pm 3,1628

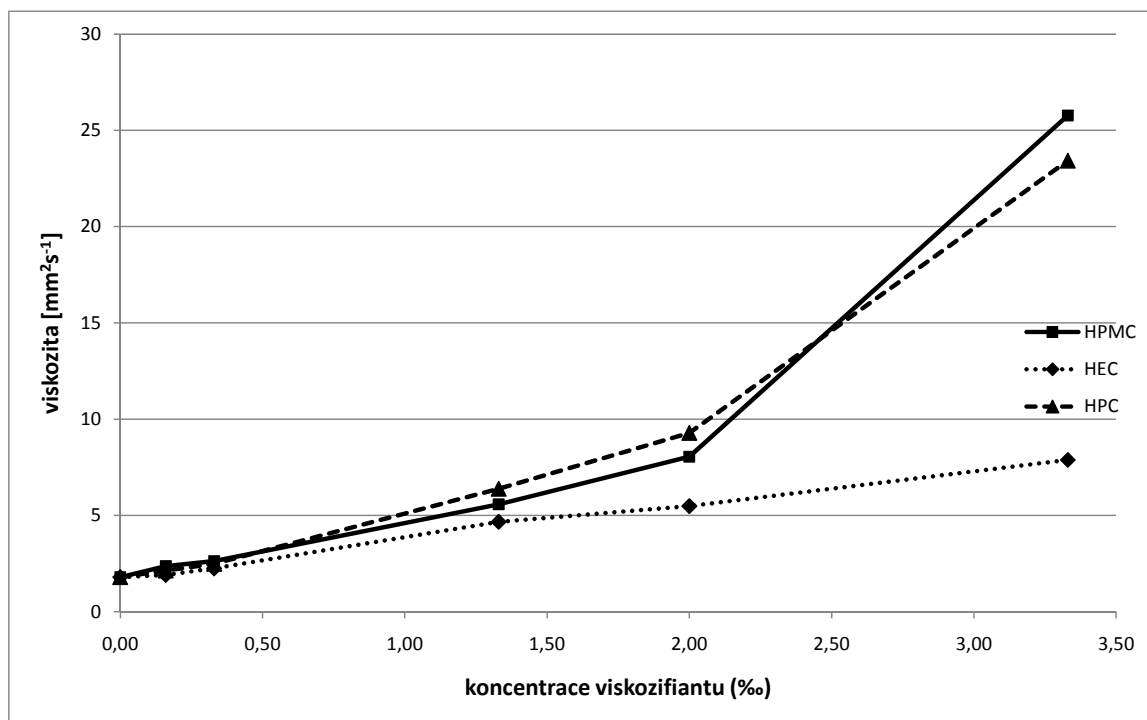
Tabulka 5:: Velikost částic a směrodatné odchylky (σ) s HPC jako viskozifiantem

číslo vzorku	HPC (‰)	velikost částic σ	velikost částic (ut) σ (ut)
25/21	0,00	187,37 \pm 5,3426	165,37 \pm 3,1565
25/22	0,15	181,17 \pm 8,3050	204,00 \pm 2,6312
25/23	0,33	160,53 \pm 11,4788	169,53 \pm 2,9738
25/24	1,33	166,53 \pm 29,4914	119,03 \pm 17,6134
25/25	2,00	261,20 \pm 10,5655	228,13 \pm 39,6509
25/26	3,00	245,63 \pm 29,8922	245,83 \pm 76,6874
26/21	0,00	180,53 \pm 0,3786	171,63 \pm 2,5865
26/22	0,15	183,90 \pm 3,6510	185,33 \pm 1,2583
26/23	0,33	162,30 \pm 14,1382	172,20 \pm 5,4308
26/24	1,33	111,53 \pm 12,4781	209,20 \pm 17,1425
26/25	2,00	308,03 \pm 34,7231	311,87 \pm 17,4863
26/26	3,00	216,00 \pm 23,5650	407,00 \pm 9,1090
27/21	0,00	215,07 \pm 2,3180	193,93 \pm 3,9585
27/22	0,15	222,03 \pm 4,2099	230,03 \pm 2,3643
27/23	0,33	195,00 \pm 5,2602	212,63 \pm 1,9287
27/24	1,33	396,90 \pm 73,5967	431,93 \pm 18,1621
27/25	2,00	449,93 \pm 14,1186	400,90 \pm 104,4032
27/26	3,00	234,03 \pm 10,7742	285,60 \pm 62,8265
28/21	0,00	216,43 \pm 2,6633	205,63 \pm 1,7521
28/22	0,15	267,67 \pm 8,8489	231,13 \pm 7,5941
28/23	0,33	245,07 \pm 10,7356	186,83 \pm 7,0720
28/24	1,33	213,33 \pm 12,9940	242,10 \pm 18,1776
28/25	2,00	412,53 \pm 21,8852	254,10 \pm 56,8288
28/26	3,00	653,93 \pm 33,2858	1884,67 \pm 420,5509

5.4 Stanovení viskozity emulzí

Pro stanovení viskozity NE bylo nutné, pro malé množství jednotlivých vzorků, smíchat vždy všechny čtyři různé emulze se stejnou koncentrací stejného viskozifiantu. To umožnilo změřit hodnotu viskozity.

Graf 1: Viskozita směsí emulzních vzorků



Tabulka 6: Viskozita směsí emulzních vzorků

viskozifiant	Viskozita (mm^2s^{-1})					
	0,00 ‰	0,15 ‰	0,33 ‰	1,33 ‰	2,00 ‰	3,33 ‰
HPMC	1,8042	2,3753	2,6314	5,5819	8,0586	25,7742
HEC	1,8042	1,9152	2,2579	4,6767	5,4926	7,8921
HPC	1,8042	2,1462	2,4946	6,3936	9,2907	23,4266

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

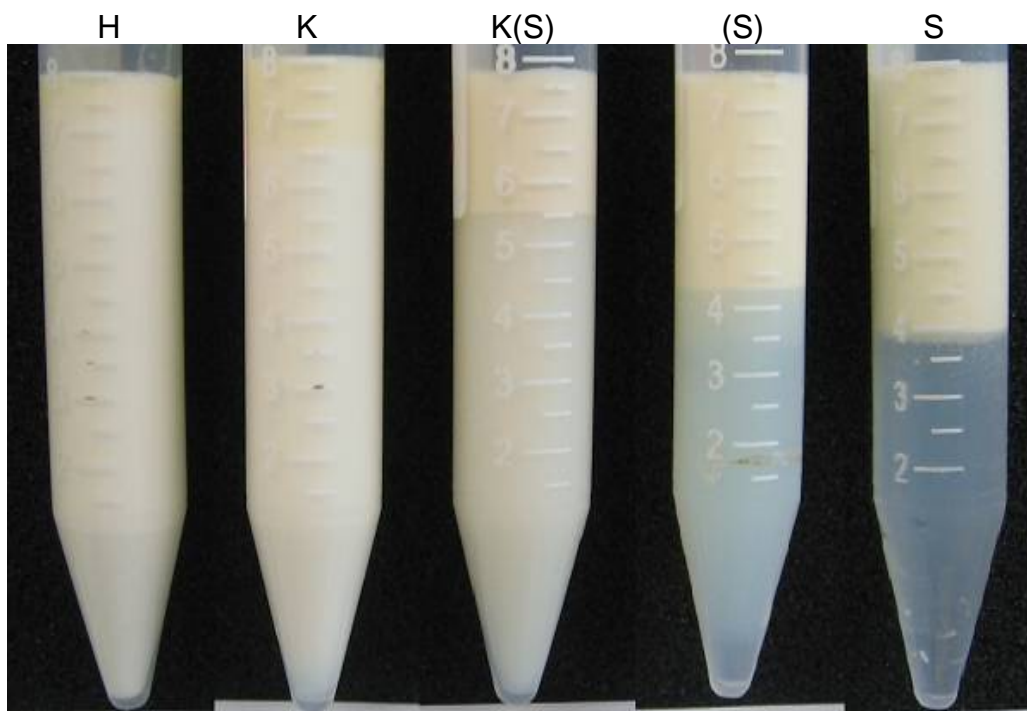
6.1 Makroskopické hodnocení nanoemulzí

U připravených vzorků bylo pro účely této práce rozlišováno pět různých makroskopických variant. Vzorky jsou považovány za homogenní H, tvoří-li zkrémovatělá vrstva vzorku u hladiny $\leq 10\%$. U vzorků s označením K je zkrémovatělá část vzorku tvoří $> 10\%$ – dochází ke krémovatění emulze. Označení K(S) nesou vzorky, u kterých došlo ke krémovatění a je možné pozorovat začínající separaci fází v důsledku OZ. (S) značí vzorky, u kterých došlo k neúplnému OZ emulze a u vzorků S došlo k úplnému OZ za vzniku precipitátu a ve vzorku jsou patrné dvě oddělené fáze, kde je vodná fáze téměř čirá. Viz. Obrázek 22: Ukázka vzorků s rozlišovanými variantami H, K, K(S), (S) a S.

Tabulka 7: Makroskopické vyhodnocení emulzí

viskozifiant	emulze číslo	koncentrace viskozifiantu					
		0,00 ‰	0,15 ‰	0,33 ‰	1,33 ‰	2,00 ‰	3,33 ‰
HPMC	25	K	K	K	K(S)	(S)	S
	26	H	H	K	K(S)	(S)	S
	27	K	K	K	K(S)	(S)	S
	28	H	K	K	S	S	S
HEC	25	K	K	K	K	(S)	(S)
	26	K	K	K	S	(S)	S
	27	K	K	K	K(S)	(S)	S
	28	K	K	K	K(S)	(S)	S
HPC	25	K	K	K	K(S)	S	S
	26	K	K	K	K(S)	(S)	S
	27	K	K	K	S	S	S
	28	K	K	K	(S)	S	S

Z uvedených výsledků makroskopického hodnocení vzorků je patrné, že vyšší obsah viskozifiantu (1,33 ‰ a více) vede k destabilizaci celého systému NE. Přidání viskozifiantu v koncentraci nižší (do 1,33 ‰) k tomuto jevu nevede.



Obrázek 22: Ukázka vzorků s rozlišovanými variantami H, K, K(S), (S) a S.

6.2 Velikost částic

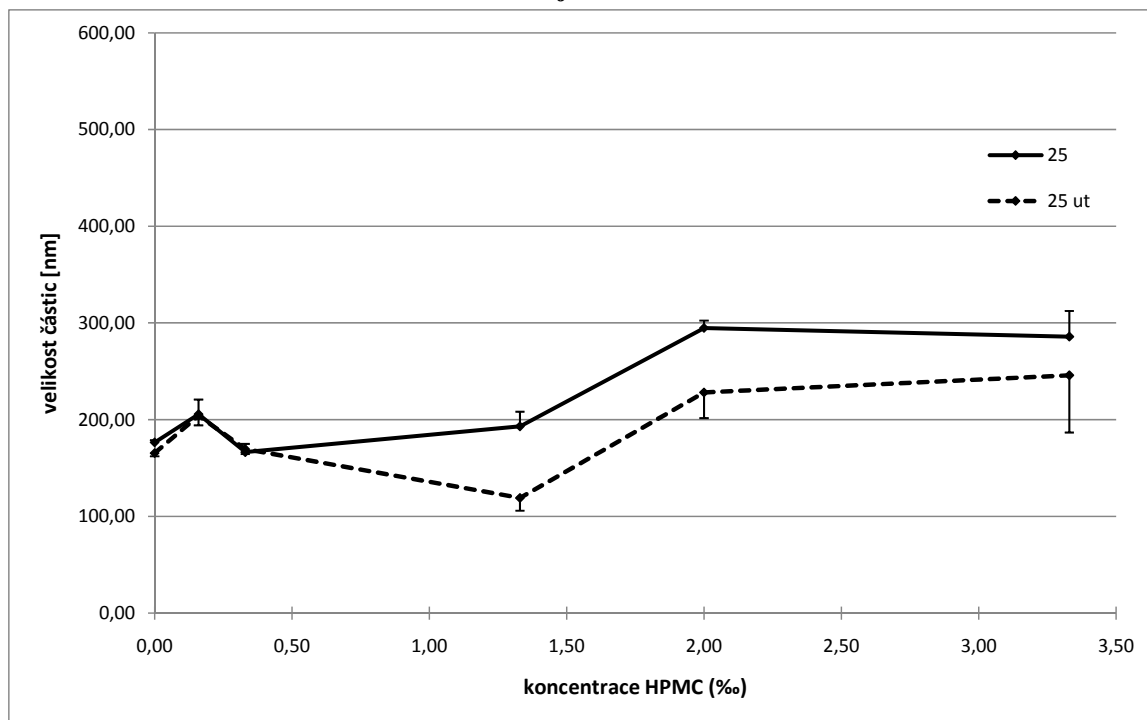
Naměřená velikost částic je graficky znázorněna na grafech číslo 2 až 12. Pro srovnání jsou v jednom grafu spárována data z první fáze měření a z měření uskutečněných po homogenizaci stejných vzorků. Hodnoty, které přesahují oblast grafu, jsou uvedeny v poznámce pod grafem.

U koncentrací 0,00; 0,15 a 0,33 ‰ se velikost částic pohybuje v rozmezí 200 ± 50 nm. Interval hodnot velikosti částic je stejný pro vzorky před i po homogenizaci.

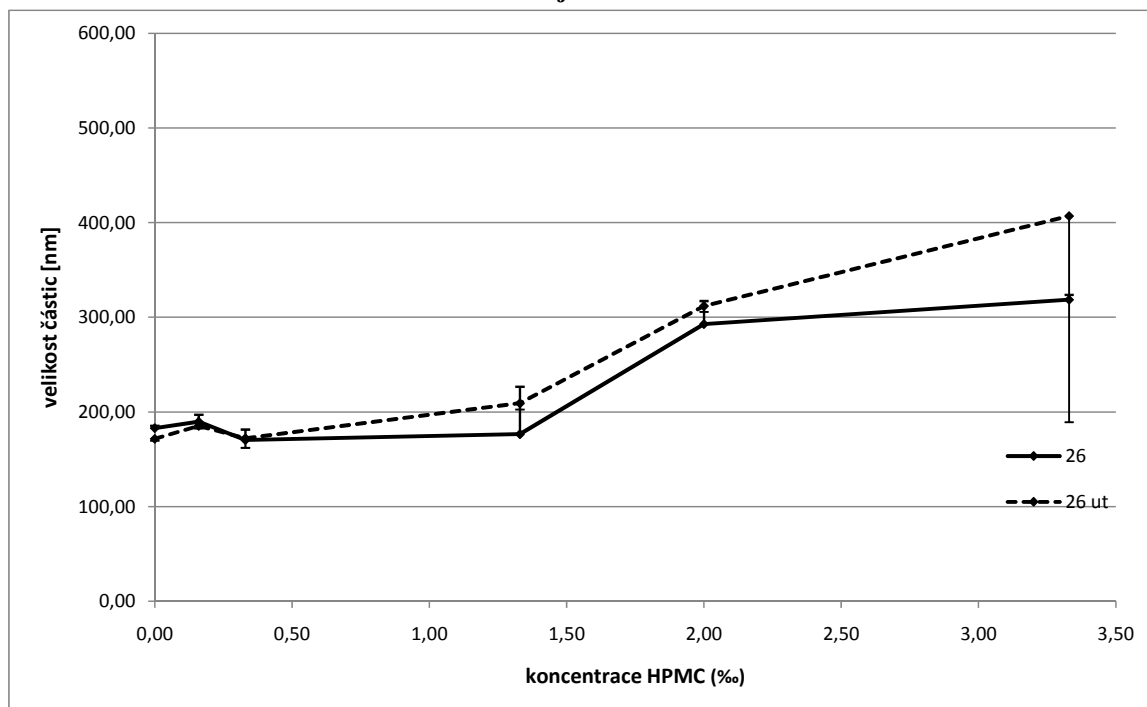
Situace je ale odlišná u vzorků s koncentrací viskozifiantu 1,33 ‰ a vyšší. U vzorků, které se liší velikostí částic vnitřní fáze minimálně o ± 100 nanometrů a více od hodnot u vzorků s nižší koncentrací viskozifiantu, došlo k opětovnému krémovatění nebo OZ emulze již v průběhu měření, přestože byly vzorky před měřením promíchány.

Jako nejméně stabilní se zdá být emulze číslo 28 s HPC jako viskozifiantem. (viz. Graf 13: Velikost částic emulzí č. 28 s HPC jako viskozifiantem). Hodnoty velikosti částic se liší již při koncentraci 1,33 ‰ a u vyšších koncentrací došlo k separaci fází již během měření.

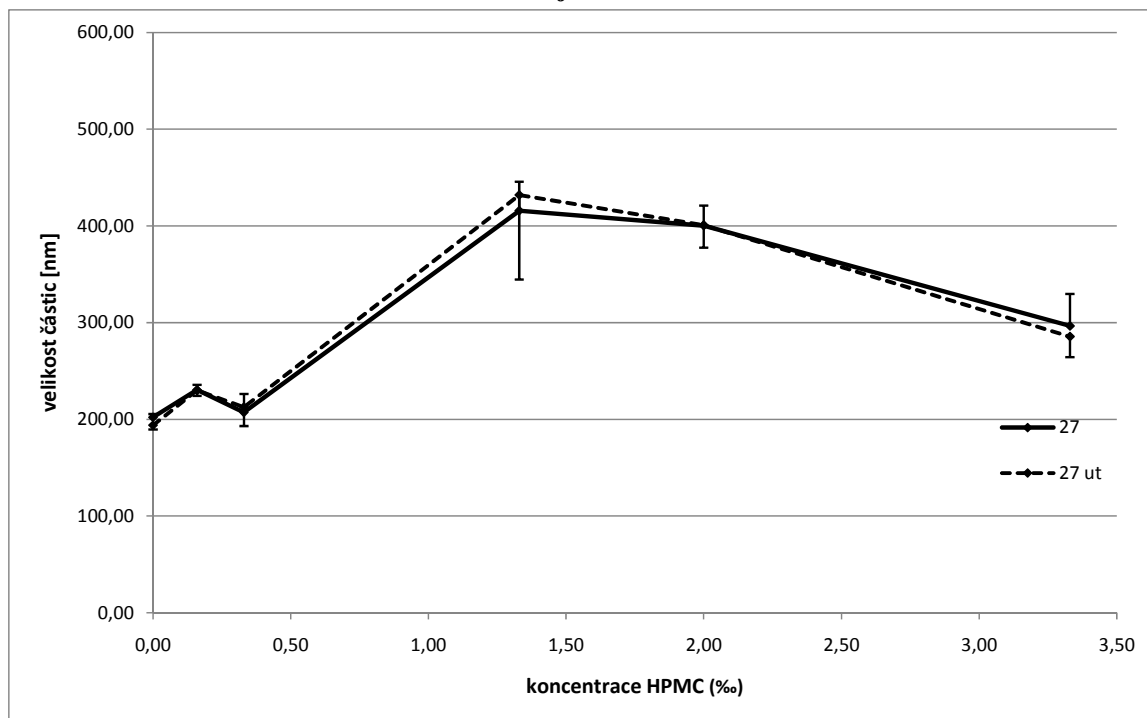
Graf 2: Velikost částic emulzí č. 25 s HPMC jako viskozifiantem



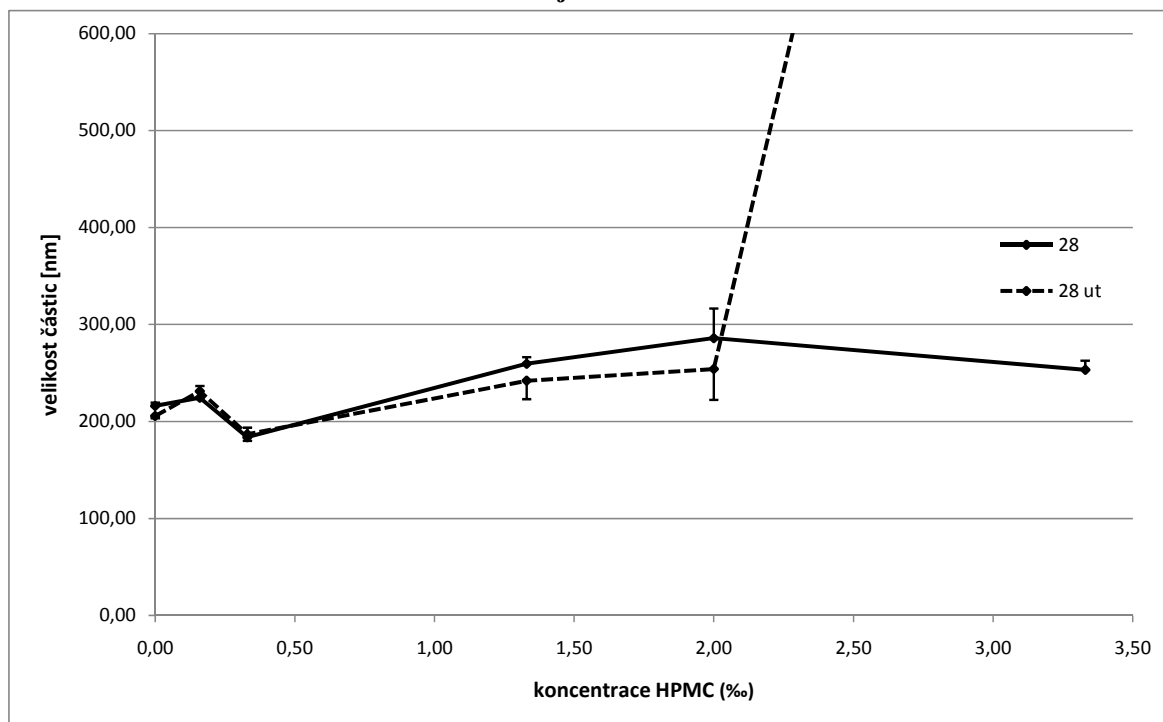
Graf 3: Velikost částic emulzí č. 26 s HPMC jako viskozifiantem



Graf 4: Velikost částic emulzí č. 27 s HPMC jako viskozifiantem

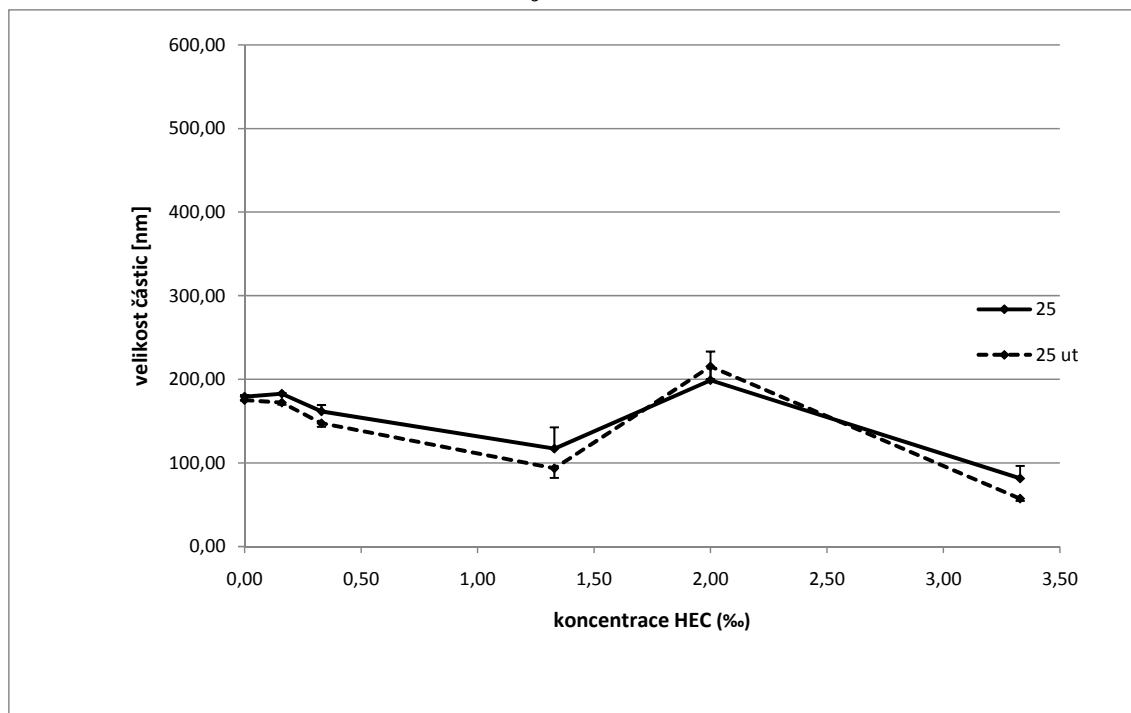


Graf 5: Velikost částic emulzí č. 28 s HPMC jako viskozifiantem

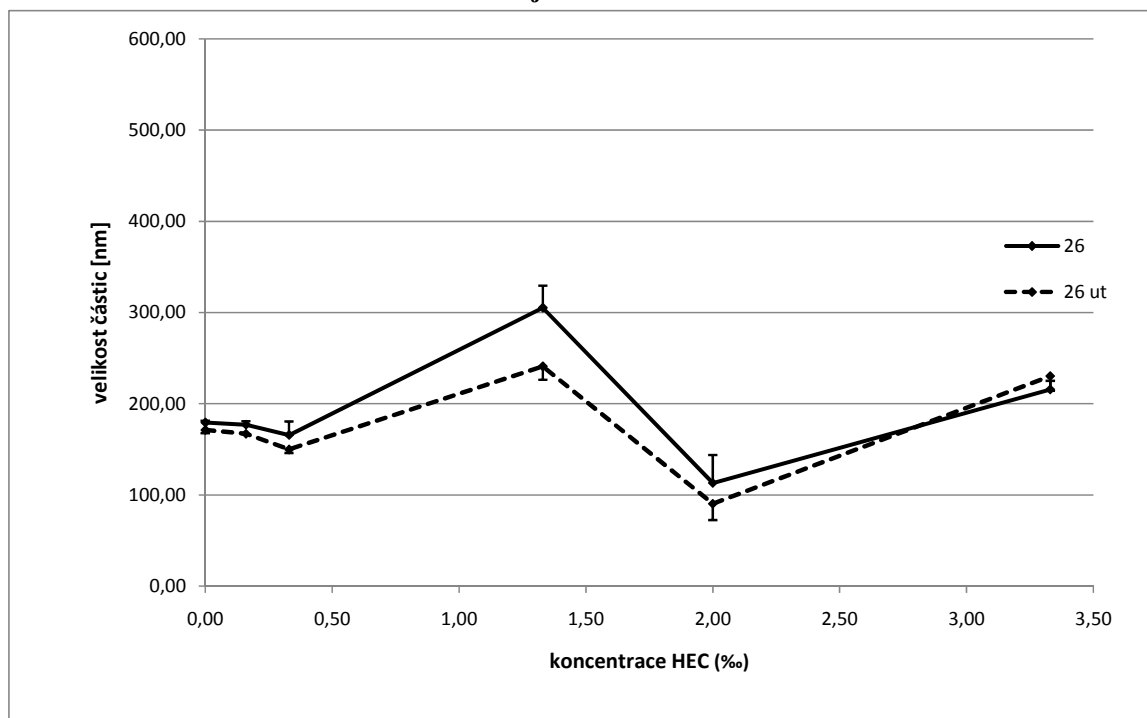


Poznámka: Hodnoty pro vzorek 28/06ut jsou $1884,67 \pm 311,5066$

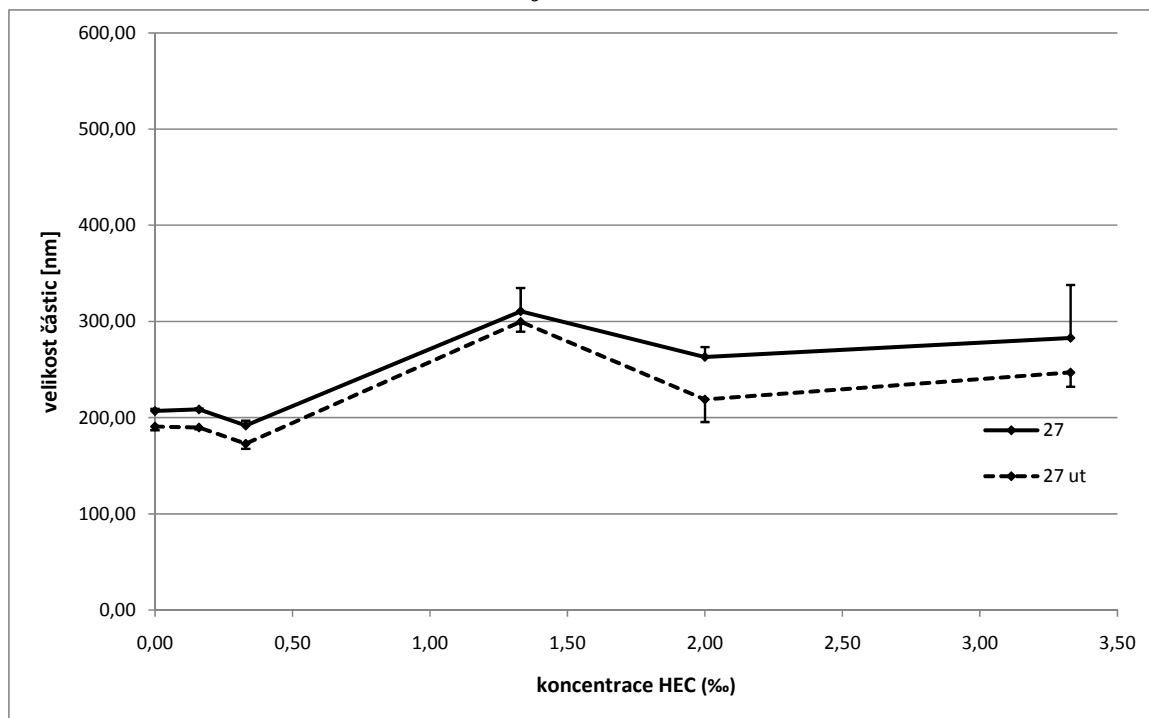
Graf 6: Velikost částic emulzí č. 25 s HEC jako viskozifiantem



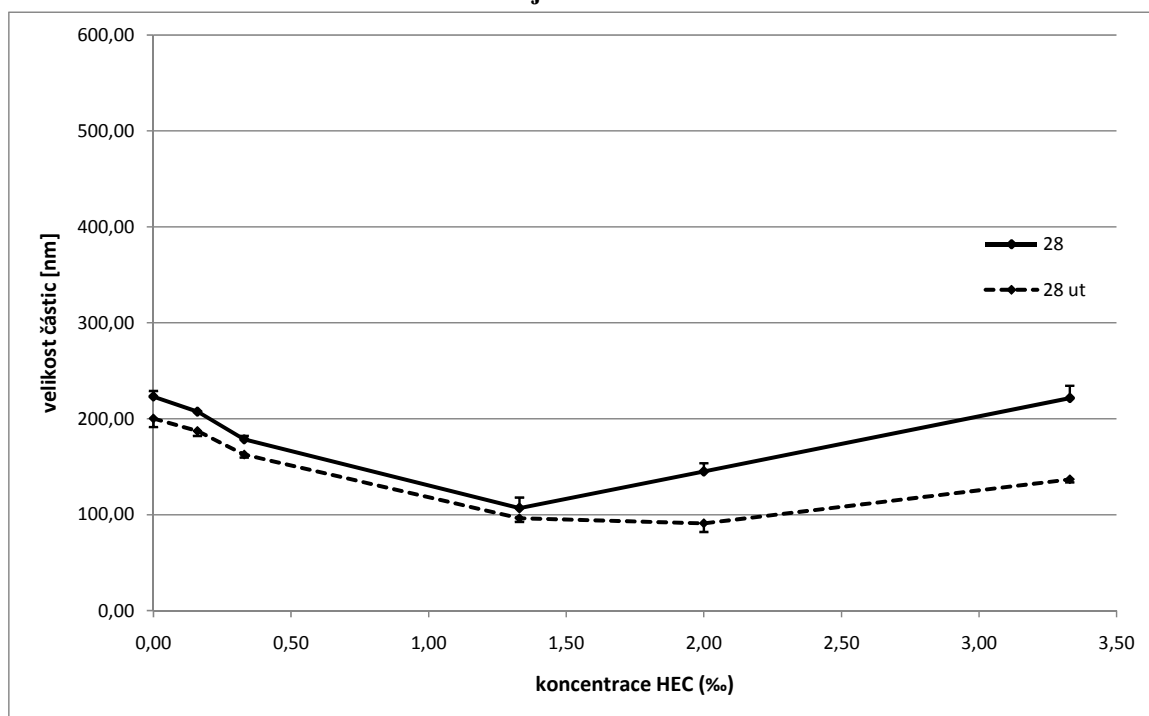
Graf 7: Velikost částic emulzí č. 26 s HEC jako viskozifiantem



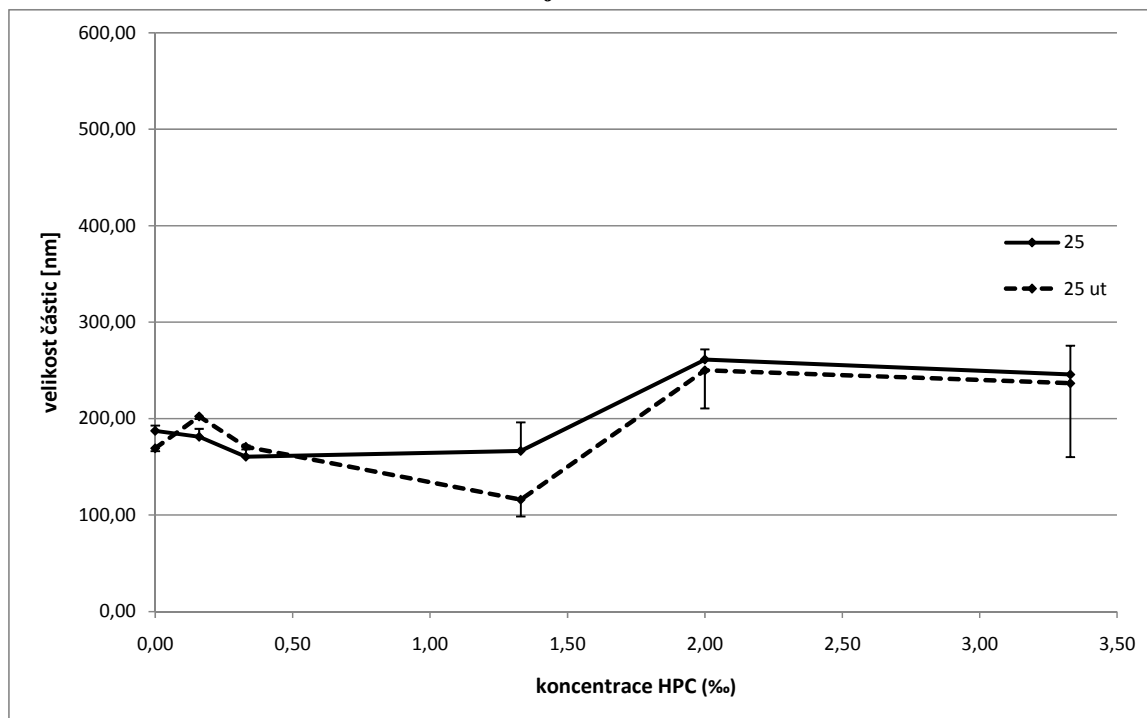
Graf 8: Velikost částic emulzí č. 27 s HEC jako viskozifiantem



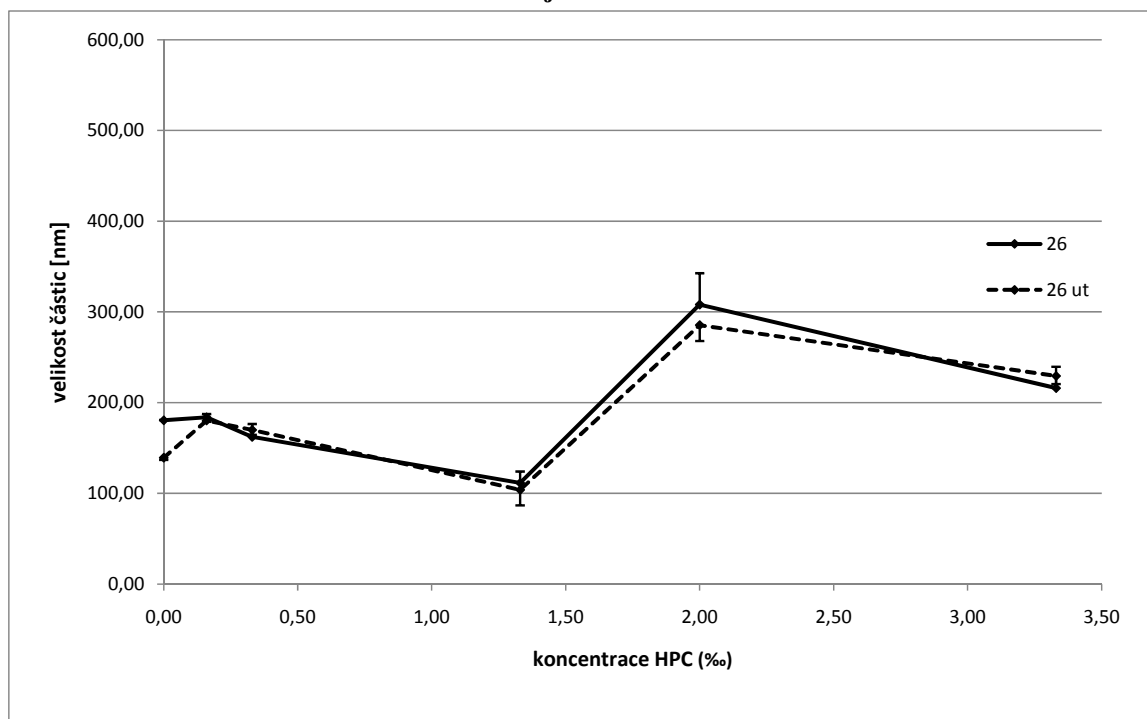
Graf 9: Velikost částic emulzí č. 28 s HEC jako viskozifiantem



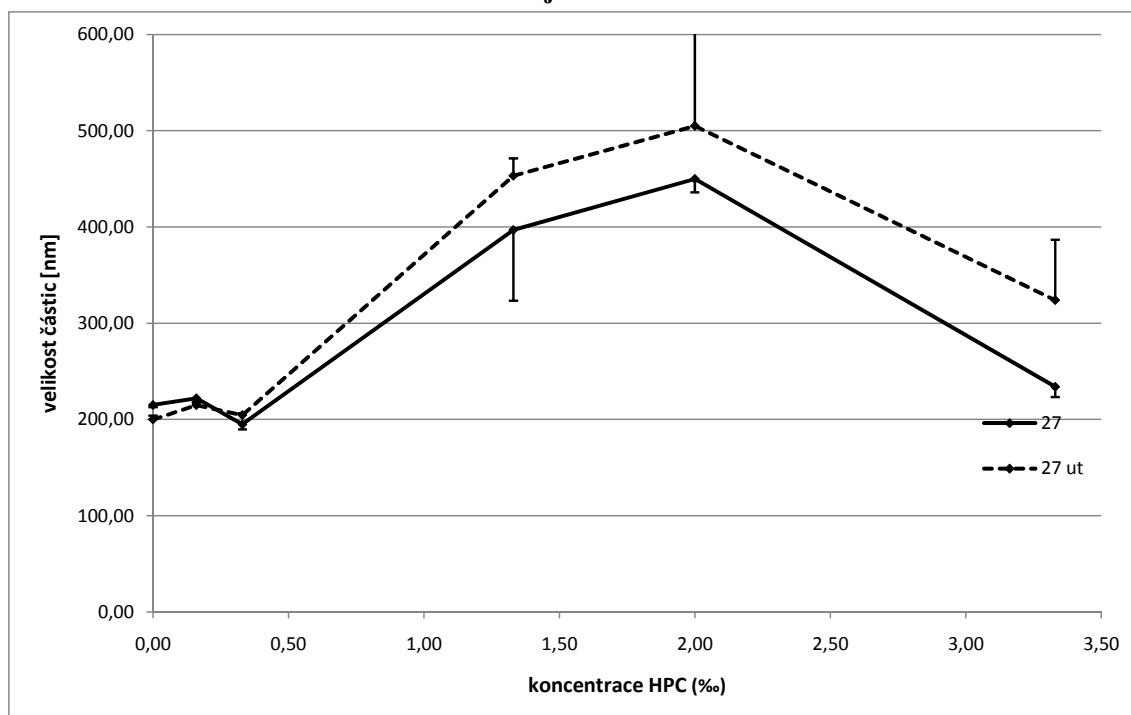
Graf 10: Velikost částic emulzí č. 25 s HPC jako viskozifiantem



Graf 11: Velikost částic emulzí č. 26 s HPC jako viskozifiantem

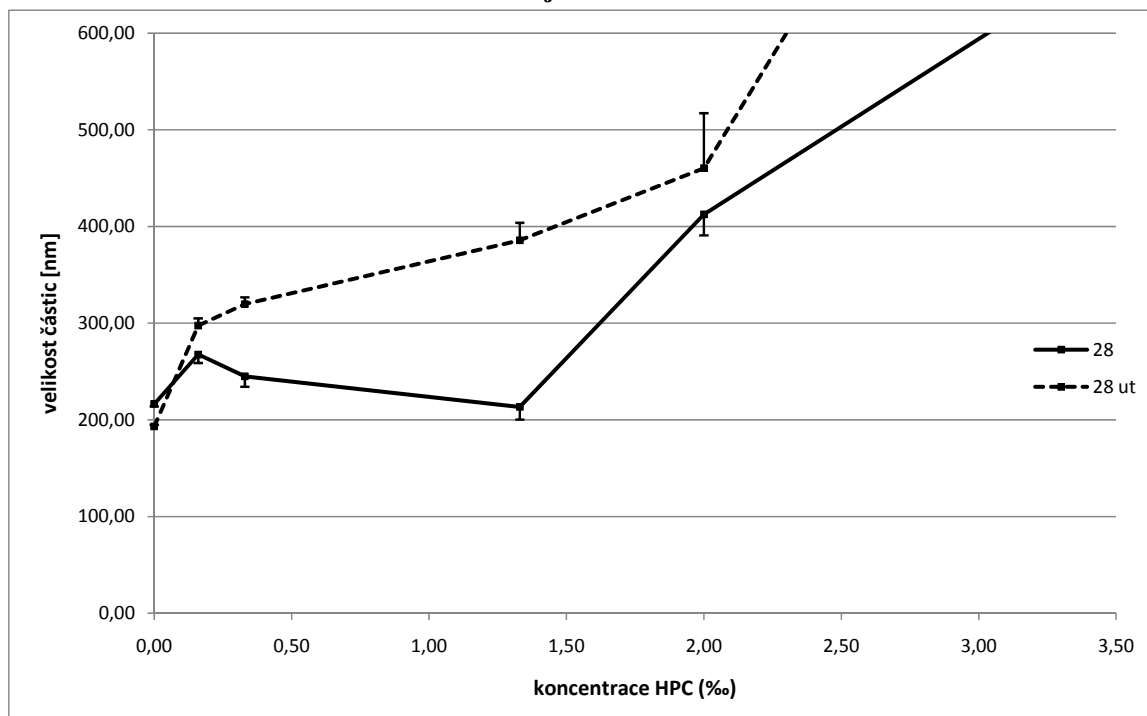


Graf 12: Velikost částic emulzí č. 27 s HPC jako viskozifiantem



Poznámka: Hodnota směrodatné odchylky u vzorku 27/25 je $\pm 104,4032$

Graf 13: Velikost částic emulzí č. 28 s HPC jako viskozifiantem



Poznámka: Hodnoty pro vzorek 28/26 jsou $653,93 \pm 33,2858$ a vzorek 28/26ut jsou $1884,67 \pm 420,5509$

6.3 Zrychlené stabilitní testy

Jako zrychlený stabilitní test byla zvolena metoda centrifugace. Vzorky byly centrifugovány při 3000 otáčkách za vteřinu a makroskopicky hodnoceny v každé minutě centrifugace. Centrifugování bylo ukončeno v desáté minutě, kdy se vzorky z makroskopického hlediska jevily jako ustálené.

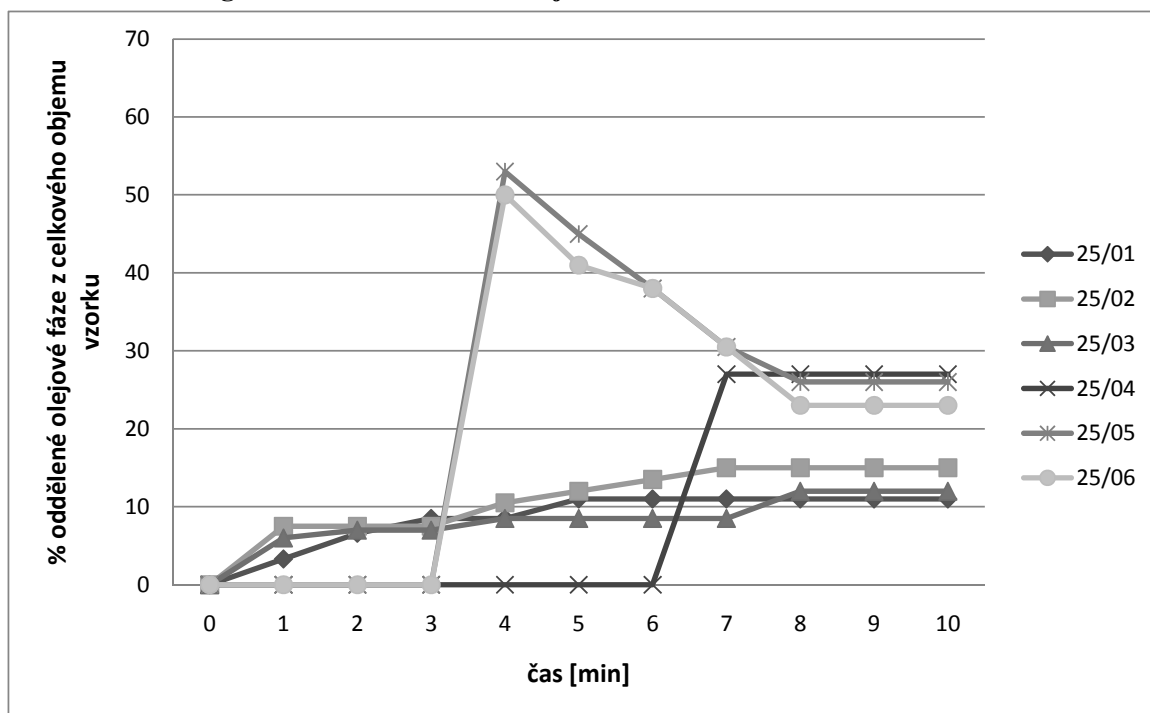
U vzorků s koncentrací 0,00; 0,15 a 0,33 ‰ byl hodnocen vznik a poměr zkrémovatělé vrstvy k celkovému objemu vzorku. U vzorků s vyšší koncentrací přidaného viskozifiantu (1,33; 2,00 a 3,33 ‰) došlo vlivem centrifugace k rozvrstvení fází podle hustot. Viz také část 6.1 Makroskopické hodnocení nanoemulzí.

Níže jsou uvedeny grafy vlivu centrifugace na olejovou fázi vzorků. Z grafů je patrné, že u vzorků s nižší koncentrací (do 1,33 ‰) vrstva olejové – zkrémovatělé fáze – narůstá pozvolna až do ustáleného stavu, kterým je hodnota v desáté minutě.

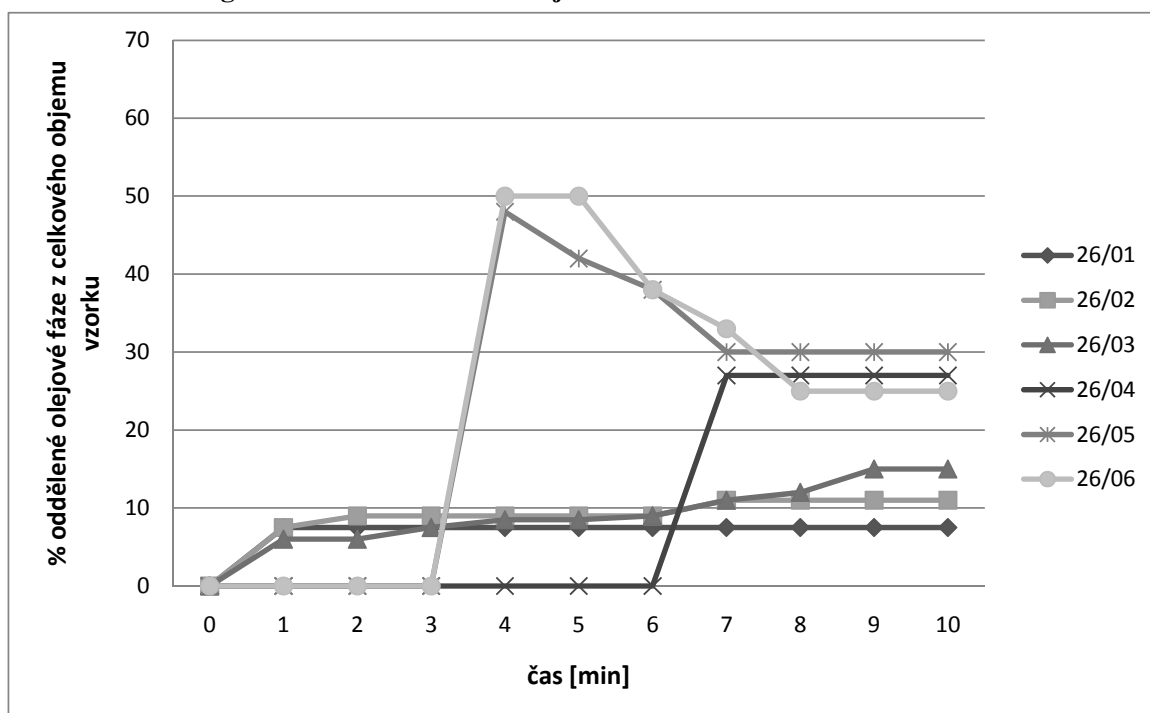
U vzorků s vyšší koncentrací (1,33 ‰ a vyšší) se hodnota v prvních minutách nemění a poté skokově roste, a buď zůstává na stejné úrovni, anebo klesá až do ustáleného stavu. Varianta postupného poklesu je častější. Tato skutečnost může být vysvětlena tím, že nedochází ke koalescenci, ale k úplné separaci fází, která je makroskopicky patrna až po určité době centrifugování (2. – 5. minuta). Ve spodní části zkumavky je možné pozorovat téměř čirou vodnou fázi a výška precipitátu u hladiny se postupně zmenšuje ve prospěch vodné fáze u dna zkumavky.

Výjimkou jsou pouze vzorky emulze číslo 25 s HEC jako viskozifiantem. (Viz. Graf 18). Tyto vzorky se jevily makroskopicky jako nejstabilnější. K úplné separaci fází došlo pouze u nejvyšší koncentrace viskozifiantu.

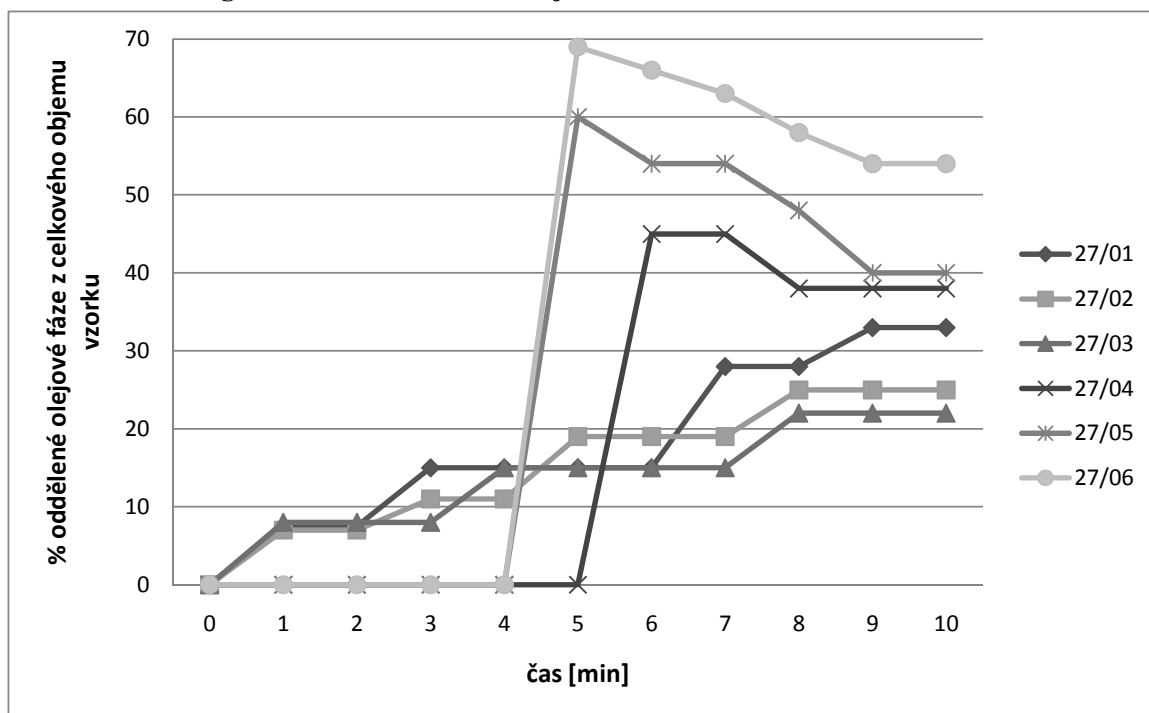
Graf 14: Centrifugace emulzí č. 25 s HPMC jako viskozifiantem



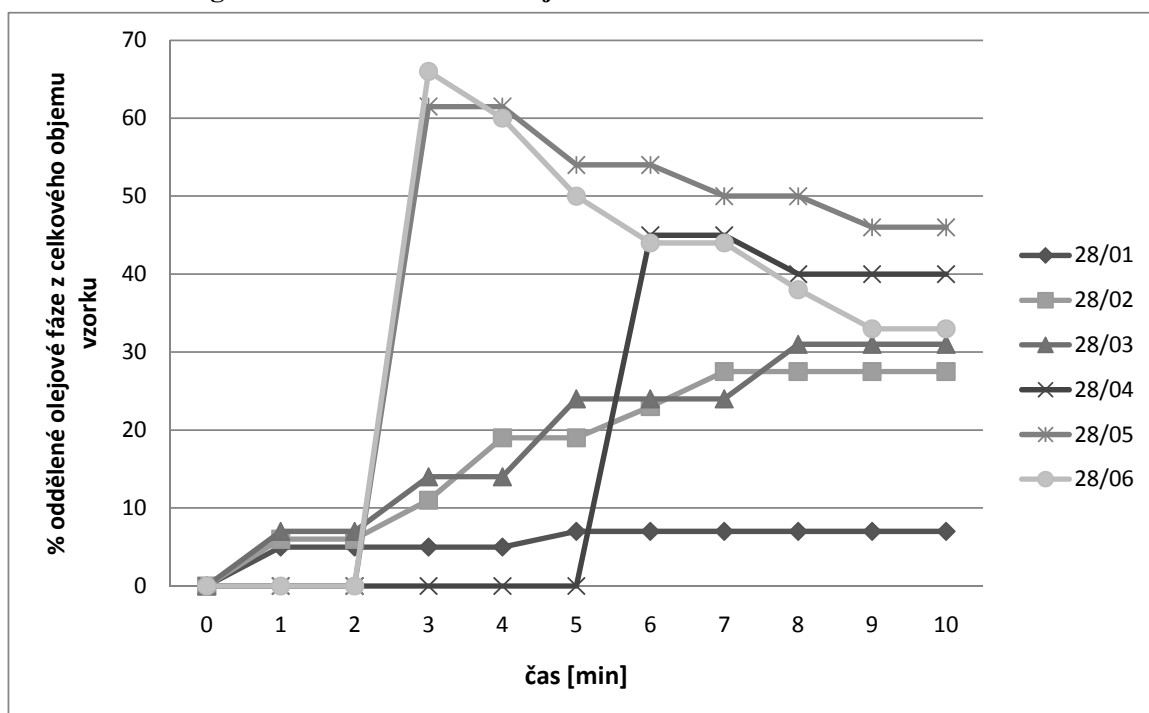
Graf 15: Centrifugace emulzí č. 26 s HPMC jako viskozifiantem



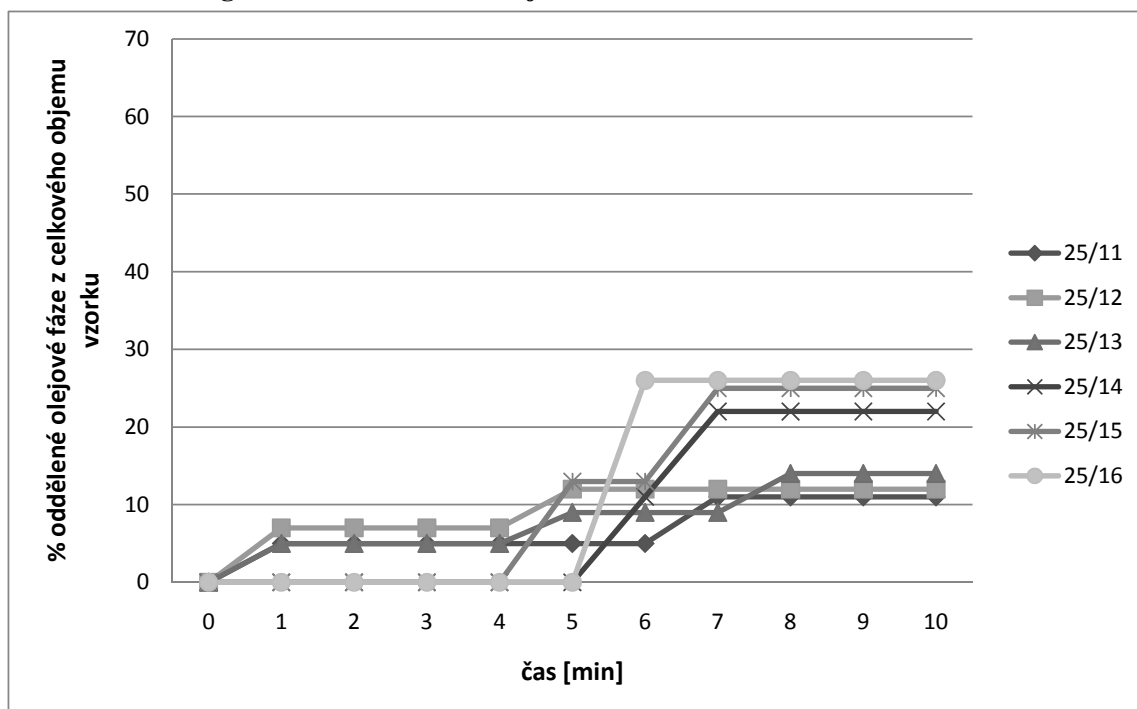
Graf 16: Centrifugace emulzí č. 27 s HPMC jako viskozifiantem



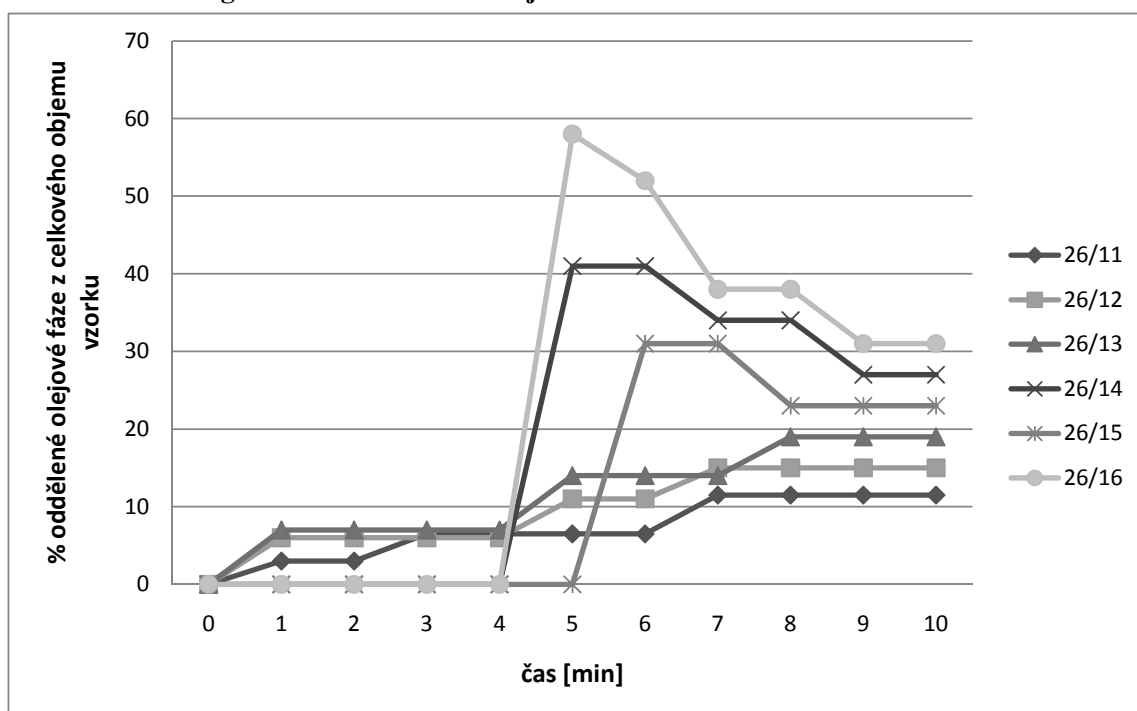
Graf 17: Centrifugace emulzí č. 28 s HPMC jako viskozifiantem



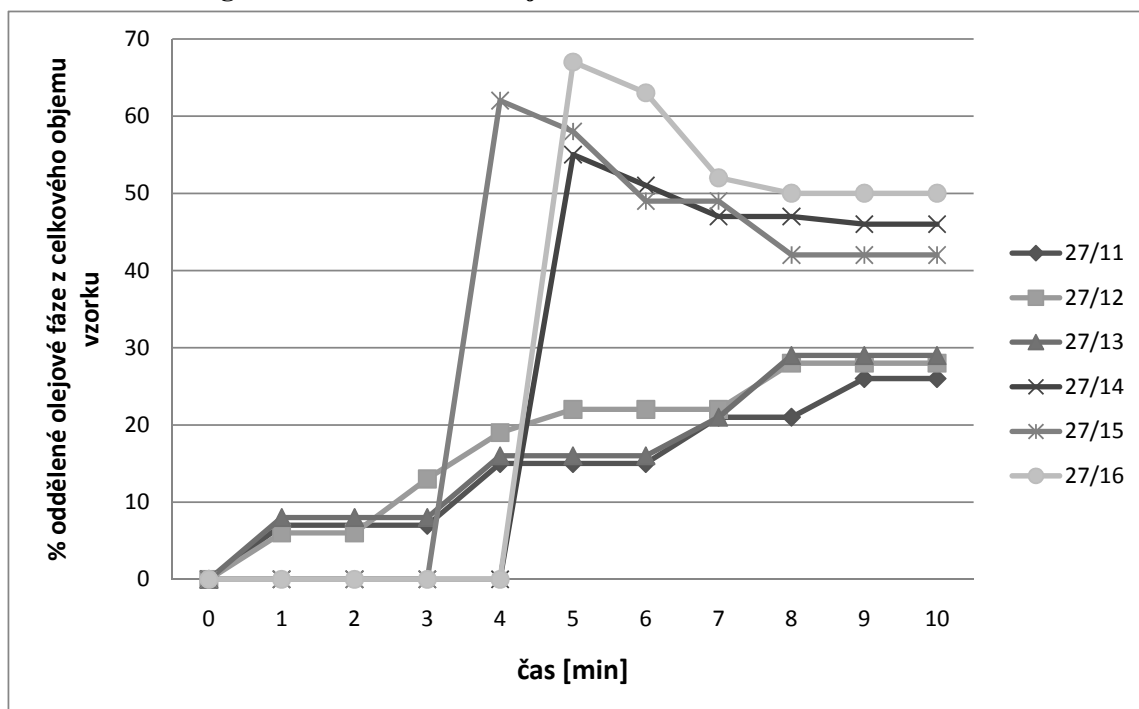
Graf 18: Centrifugace emulzí č. 25 s HEC jako viskozifikantem



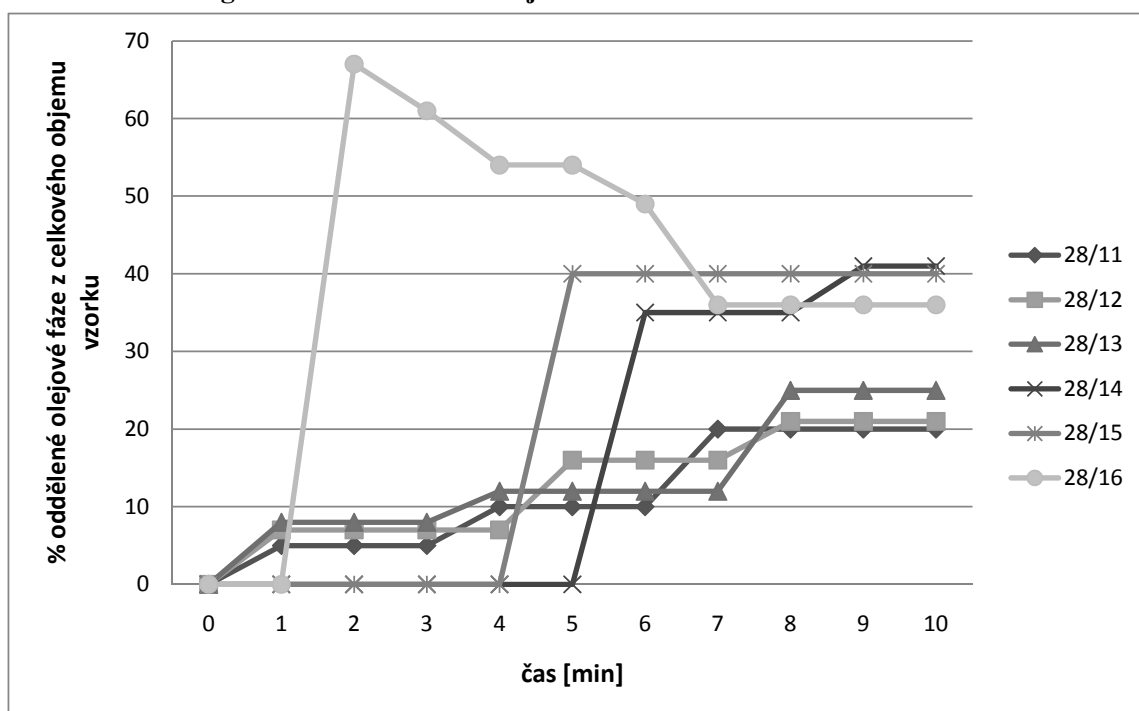
Graf 19: Centrifugace emulzí č. 26 s HEC jako viskozifikantem



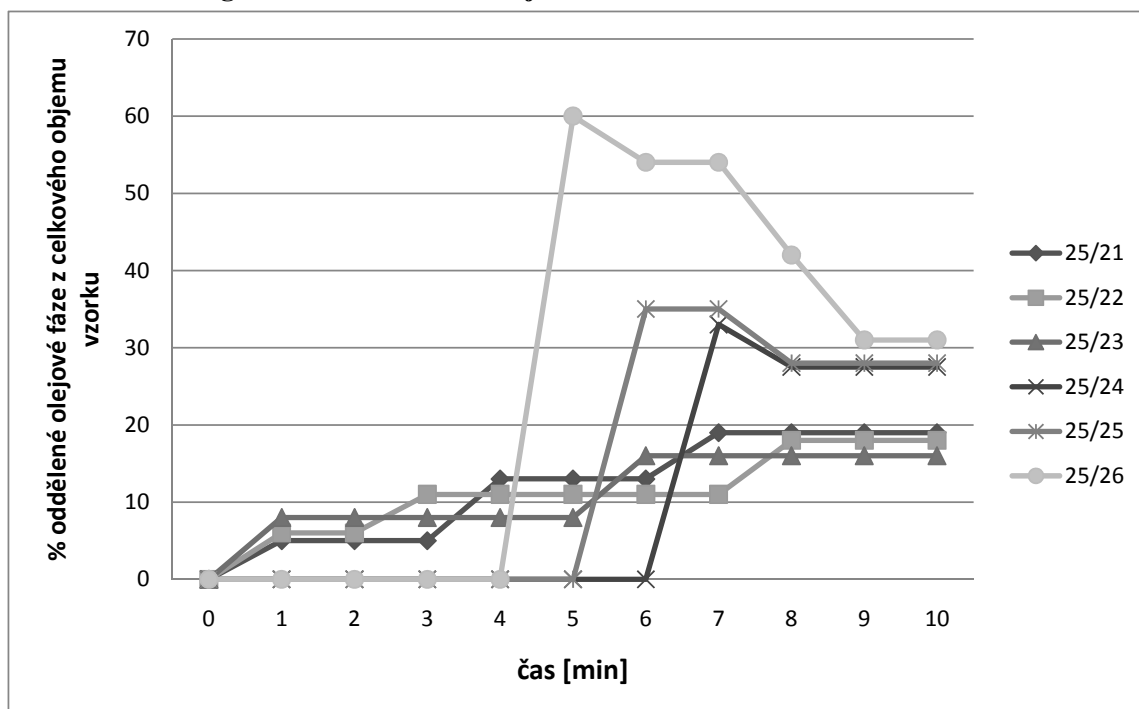
Graf 20: Centrifugace emulzí č. 27 s HEC jako viskozifikantem



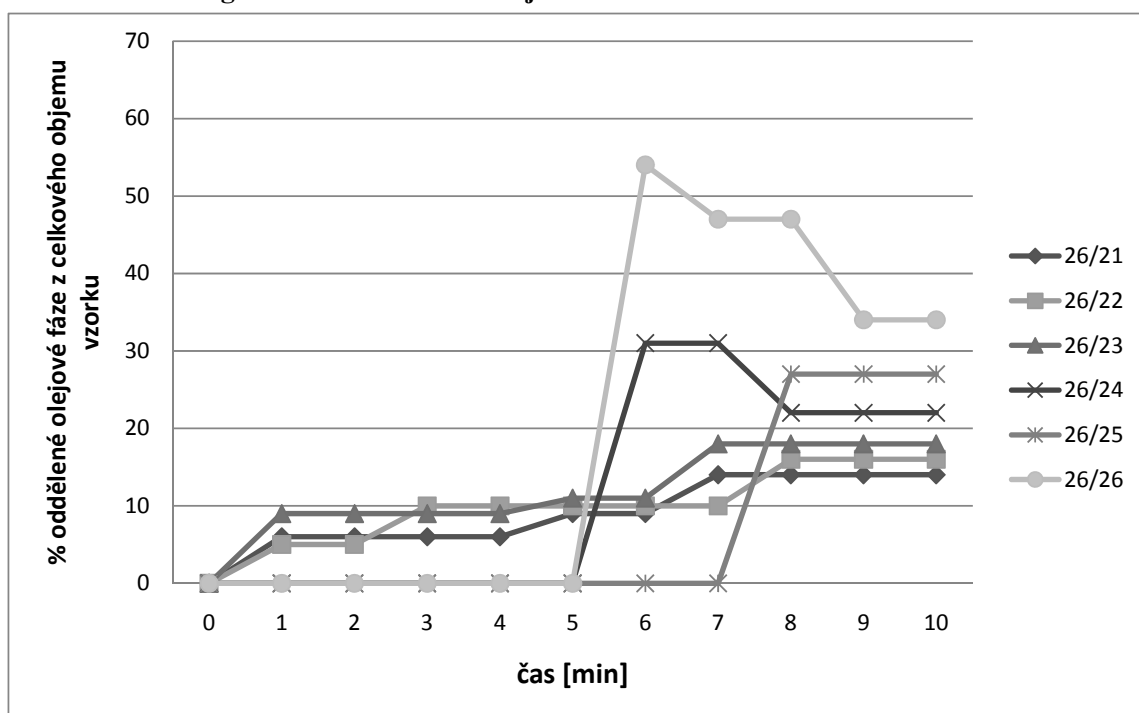
Graf 21: Centrifugace emulzí č. 28 s HEC jako viskozifikantem



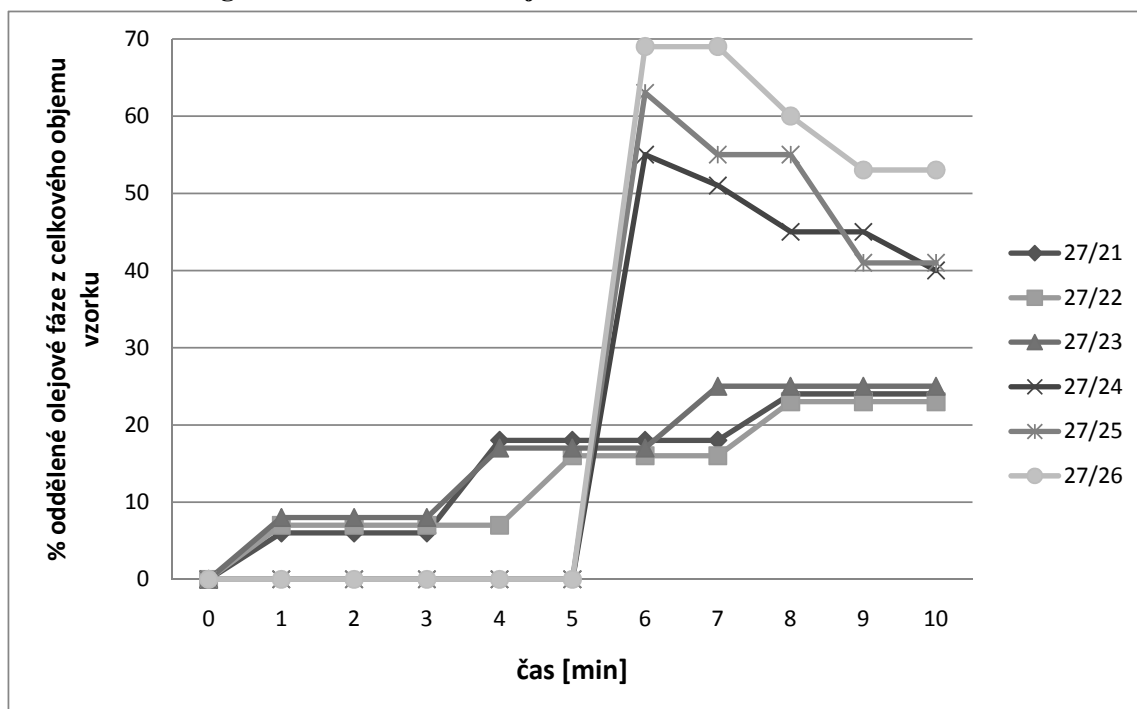
Graf 22: Centrifugace emulzí č. 25 s HPC jako viskozifiantem



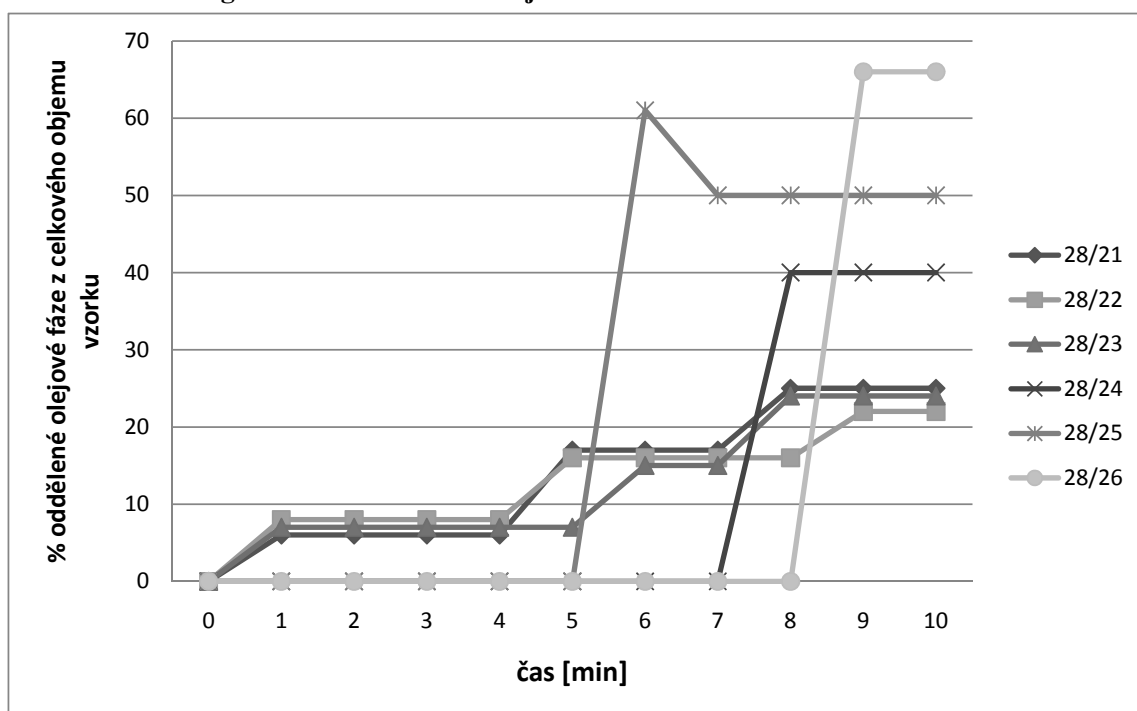
Graf 23: Centrifugace emulzí č. 26 s HPC jako viskozifiantem



Graf 24: Centrifugace emulzí č. 27 s HPC jako viskozifiantem



Graf 25: Centrifugace emulzí č. 28 s HPC jako viskozifiantem



6.4 Vliv homogenizace emulzí na velikost částic

Jak je možné vidět na grafech v části 6.2 - Velikost částic, nevede homogenizace k významnému zmenšení částic NE. To platí pro vzorky s koncentrací viskozifiantu 0,00; 0,15 a 0,33 ‰. Naměřené hodnoty u jednotlivých koncentrací před a po homogenizaci jsou buď téměř totožné, nebo se pohybují v rozmezí ± 20 nm. Změna velikosti při porovnání jednotlivých koncentrací není větší než ± 50 nm.

Jedinou výjimkou je vzorek číslo 28/23ut (viz Graf 13: Velikost částic emulzí č. 28 s HPC jako viskozifiantem) u kterého je naměřená velikost po homogenizaci téměř o 80 nm větší než před homogenizací.

U NE s viskozifiantem v koncentraci 1,33 ‰ a vyšší je situace rozmanitější. Velikost částic je různorodá, od 100 nm až po hodnotu 1880 nm. U vzorků s hodnotami, které se liší od předchozí koncentrace o více než 100 nm, došlo ke změnám (separace obou fází) již během měření. To pravděpodobně způsobilo tyto anomálie. O tom svědčí i větší směrodatné odchylky.

Jako nejstabilnější se opět jeví série vzorků 25 s HEC jako viskozifiantem. (viz. Graf 6: Velikost částic emulzí č. 25 s HEC jako viskozifiantem)

7 ZÁVĚR

1. Přidání viskozifiantu v koncentraci 1,33 ‰ a vyšší vede k destabilizaci celého systému emulze, což je možné pozorovat pouhým okem.
2. Centrifugace při 3 000 otáčkách za minutu po dobu 10 minut je dostatečná k ustálení rovnováhy v NE vzorcích.
3. Jako nejstabilnější série vzorků se z makroskopického pohledu jevila série vzorků NE číslo 25 s přídavkem HEC jako viskozifiantu. Tyto vzorky měly i nejkonstantnější hodnoty velikosti částic.
4. Homogenizace pomocí ultra-turaxu významně neovlivnila připravené NE. Velikost částic se u vzorků relativně stabilních (koncentrace viskozifiantu do 1,33 ‰) liší pouze v desítkách nanometrů (± 20 nm). U vyšších koncentrací viskozifiantu ve vzorku jsou hodnoty různé v závislosti na rychlosti destabilize systému v průběhu měření.
5. Domnívám se, že pro budoucí experimenty vlivu viskozifiantu na NE bude podstatné nalézt takovou koncentraci viskozifiantu, která by nevedla k destabilizaci emulzního systému. Dalším bodem by mělo být zajištění dlouhodobých stabilitních studií nebo zrychlených stabilitních studií a hodnotit výsledky především z pohledu změny velikosti částic. Aby naměřené výsledky byly přesnější, bylo by lepší připravit vzorky v takovém objemu, aby bylo možné stanovit viskozitu pro každý vzorek individuálně.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

(ut)	označení pro vzorky po homogenizaci
DLS	měření velikosti částic laserovou difrakcí
HEC	hydroxyethylcelulóza
HPC	hydroxypropylcelulóza
HPMC	hydroxypropylmethylcelulóza
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
NE	nanoemulze
o/v	emulze typu olej ve vodě
OZ	Ostwaldovo zrání
PdI	polydisperzita
SL	sójový lecithin
v/o	emulze typu voda v oleji
σ	směrodatná odchylka
σ (ut)	směrodatná odchylka vzorků měřených po homogenizaci

9 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] *Fyzikální chemie: Bakalářský a magisterský kurz* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008 [cit. 2010-02-03]. Dostupné z [www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-675-3/pages-img/001.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-675-3/pages-img/001.html)
- [2] VOKURKA, Martin, et al.: *Velký lékařský slovník*. Praha: Maxdorf, 2008. 1143 s. ISBN 978-80-7345-166-0.
- [3] KOMÁREK, Pavel; RABIŠKOVÁ, Miloslava. *Technologie léků: Biogalenika*. Praha: Galén, 2006. 399 s. ISBN 80-7262-423-7.
- [4] SMITH, Duane H.; LIM, Kyung-Hee. Phase and emulsion morphology diagrams of nonionic amphiphile/oil/water systems and their interrelationships. *Pure & Appl. Chem.*, [online]. 1993, Vol. 65, No. 5, s. 977-982.
- [5] KADLEC, Pavel. *Procesy potravinářských a biotechnologických výrob*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2003. 308 s. ISBN 80-7080-527-7
- [6] [Vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla](http://vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla) [online]. 2005 [cit. 2010-02-01]. Homogenizace. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla/homogenizace.html>
- [7] BARTOVSKÁ, Ludmila; ŠIŠKOVÁ, Marie. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2005 [cit. 2010-05-06]. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X>. ISBN 80-7080-579-X.
- [8] [Vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla](http://vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla) [online]. 2005 [cit. 2010-01-25]. Emulze. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz:knihy/uid_es-001/hesla/emulze.html>

-
- [9] TAYLOR, P. Ostwald ripening in emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 1995, Volume 99, 2-3, DOI: 10.1016/0927-7757(95)03161-6
- [10] McCLEMENTS, David J. *Food emulsions: principles, practices, and techniques* [online]. 4. Boca Raton, USA: CRC Press, 2005 [cit. 2010-01-21]. Dostupné z WWW: <http://books.google.com>. ISBN 8493-2023-2
- [11] www.pharmainfo.net [online]. 2008 [cit. 2010-01-19]. Nanoemulsions. Dostupné z WWW: <<http://www.pharmainfo.net/pharma-student-magazine/nanoemulsions-0>>
- [12] J. M. GUTIÉRREZ, C. GONZÁLEZ, A. MAESTRO, I. SOLÈ, C. M. PEY and J. NOLLA: Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online]. 2008, Vol. 13, n. 4, [cit. 2010-03-11]. s. 245-251. DOI:10.1016/j.cocis.2008.01.005.
- [13] TADROS, Tharwat; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J., C. Solans: Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2004, Vol. 108-109. DOI: 10.1016/j.cis.2003.10.023
- [14] SOLANS, C.; IZQUIERDO, P.; NOLLA, J., N. AZEMAR, M. J. GARCIA-CELMA: Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online]. 2005, Iss. 3-4, Vol. 10. DOI:10.1016/j.cocis.2005.06.004
- [15] GOOCH, Jan W: *Encyclopedic Dictionary of Polymers*, Springer New York, 2007, 977 s, ISBN: 03-873-102-15
- [16] SOBISCH, T.; LERCHE, D.: Thickener performance traced by multisample analytical centrifugation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2008, Vol. 331, Iss 1-2. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2008.05.040

-
- [17] MEZDOUR, Samir, et al.: Oil/water surface rheological properties of hydroxypropyl cellulose (HPC) alone and mixed with lecithin: Contribution to emulsion stability. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2008, Volume 331, Issues 1-2. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2008.07.023
- [18] Ministerstvo zdravotnictví ČR. *Český lékopis 2009*. Praha: Grada, 2009. 3968 s. ISBN 978-80-247-2994-7
- [19] *Www.cybercolloids.net* [online]. 2009 [cit. 2010-03-16]. Dostupné z WWW: <<http://www.cybercolloids.net/library/jecfa/index.php?submit=showspec&gum=additive-0226>>
- [20] *Www.cybercolloids.net* [online]. 2009 [cit. 2010-03-16]. Dostupné z WWW: <<http://www.cybercolloids.net/library/jecfa/index.php?submit=showspec&gum=additive-0225>>
- [21] *www.malvern.com: Laser diffraction* [online]. 2010 [cit. 2010-01-04]. What is Particle Size?. Dostupné z WWW: <http://www.malvern.com/LabEng/technology/laser_diffraction/what_is_particle_size.htm>
- [22] Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes. Worcestershire, UK, Malvern, 2007 [cit. 2010-01-13]. Dostupné z WWW: <<http://www.malvern.com/>>
- [23] GARRETT, Edward R.. Prediction and Evaluation of Emulsion Stability with Ultracentrifugal Stress. *J. Soc. Cosmet. Chem* [online]. 1970, no. 21,
- [24] STRENGE, K.; SEIFERT, A.: Determination of coalescence stability of emulsions by analytical ultracentrifugation under separation of dispersed, phase. *Progress in Colloid & Polymer Science* [online]. 1991, Issue: 86, DOI: 10.1007/BFb0115000

-
- [25] BECHER, Paul; SCHUSTER, Daniel. *Encyclopedia of Emulsion Technology: Basic Theory, Measurement, Applications* [online]. 4. New York: Marcel Dekker, 1988 [cit. 2010-04-09]. 452 s. Dostupné z WWW: <www.google.books.com>. ISBN: 9780824718787
- [26] Ministerstvo zdravotnictví ČR. *Český lékopis 2005*. Praha: Grada, 2005. 3264 s. ISBN 80-247-1532-5
- [27] SHAKEEL F., BABOOTA S., AHUJA A., ALI J., AQIL M., SHAFIQ S.: Nanoemulsions as Vehicles for Transdermal Delivery of Aceclofenac. *AAPS PharmSciTech*. [online] 2007; 8(4). DOI: 10.1208/pt0804104
- [28] SZNITOWSKA, Malgorzata; ZUROWSKA-PRYCZKOWSKA, Katarzyna; JANICKI, Stanislaw, Tomi Jarvinen: Miotic effect and irritation potential of pilocarpine prodrug incorporated into a submicron emulsion vehicle. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 1999, Vol. 184, Issue 1. DOI:10.1016/S0378-5173(99)00106-4
- [29] LI, Di-Cai, et al.: Application of targeted drug delivery system in Chinese medicine. *Journal of Controlled Release* [online]. 2009, Vol. 138, Issue 2. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.05.008
- [30] VYAS, Tushar K.; SHAHIWALA, Aliasgar; AMIJI, Mansoor M.: Improved oral bioavailability and brain transport of Saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2008, Volume 347, Issues 1-2. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2007.06.016]